TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DE

M. Alexandre GUILLIERMOND

Chargé d'un Cours complémentaire à la Faculté des Sciences de Lyon.

LYON

A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

1921

TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

TITRES UNIVERSITAIRES

1896. Certificat P. C. N. (Faculté des Sciences de Lyon).
1899. Licencié ès Sciences naturelles (Faculté des Sciences de Lyon).
1902. Docteur ès Sciences naturelles (Faculté des Sciences de Paris).

PRIX DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES

1904. Prix Desmazières (Rapporteur, M. Gaston Bonnier).
1909. Prix Montagne (Rapporteur, M. Mangin).

SOCIÉTÉS SCIENTIFIQUES

1910. Membre correspondant de la Société de Biologie de Paris.
1919. Vice-Président de la Société Mycologique de France.
1920. Secrétaire général et fondateur de la Réunion Biologique de Lyon (filiale de la Société de Biologie de Paris)
1921. Membre correspondant de la Société des Sciences naturelles de Lisbonne.

FONCTIONS UNIVERSITAIRES

1913. Chargé d'un cours complémentaire de Botanique agricole a la Faculté des Sciences de Lyon.

ENSEIGNEMENT

1910 à 1912. Conférences préparatoires a l'Agrégation des Sciences naturelles (à titre bénévole).

1913 à 1921. Cours complémentaire de Botanique agricole et direction des travaux pratiques de Botanique agricole.

Ce cours a été remplacé l'année 1914-1915 par un cours de Mycologie pour les candidats au certificat de Botanique générale.

Pendant les années 1915-1916 et 1916-1917, ce cours a comporté des leçons d'Anatomie et de Physiologie végétales, communes aux candidats aux Certificats de Botanique générale et de Botanique agricole.

1918 a 1920. Conférences préparatoires a l'Agrégation des Sciences naturelles (à titre officieux).

INTRODUCTION

L'enseignement donné à Lyon, au cours de mes études de P. C. N. et de Licence, par MM. Caullery et Sauvageau, a déterminé ma vocation biologique. C'est à M. Caullery, qui n'a jamais cessé de suivre ma carrière scientifique, que je dois d'avoir été mis en relation avec l'Institut Pasteur, où j'ai souvent trouvé des directives pour mes recherches. Orientation de la carrière scientifique.

J'ai orienté mes études vers la Botanique, parce que cette partie de la Science me paraissait plus propre à éclairer certains problèmes de Biologie générale que l'étude complexe des animaux.

Au moment où j'ai commencé les recherches qui m'ont conduit à ma thèse de Doctorat, c'est-à-dire en 1899, M. Sauvageau avait quitté Lyon, mais ses leçons si suggestives sur la sexualité des Champignons et des Algues m'avaient laissé entrevoir des horizons nouveaux et séduisants. J'avais été frappé par l'intérêt des études cytologiques et par l'utilité qu'on pouvait en retirer pour établir une connaissance plus exacte du développement, de la sexualité et de la taxinomie des Thallophytes.

D'autre part, mon attention avait été attirée sur l'obscurité qui régnait à ce moment sur les affinités systématiques des Levures. C'est dans l'espoir de découvrir des phénomènes sexuels au cours du développement de ces Champignons et par là de résoudre le problème toujours ouvert de leur origine, que j'ai entrepris mes premières recherches. Mais il y avait là une difficulté à vaincre : il fallait aborder au préalable l'étude cytologique des Levures, et, à cette époque, bien que les idées les plus contradictoires régnassent à ce sujet, on admettait volontiers que les Levures se distinguaient des autres Champignons par une structure primitive, très spéciale. Etude cytologique des Levures.

Le programme que je m'étais tracé paraissait évidemment fort ardu pour un débutant, et les Levures, d'ailleurs, avaient été à d'autres points de vue l'objet des belles recherches de M. Hansen; il semblait que tout ce qui concerne leur développement était connu. Et cependant mes espérances furent dépassées.

Livré à mes propres ressources, j'ai éprouvé d'abord de très sérieuses difficultés de technique et d'interprétationa qui m'auraient arrêté si le hasard ne m'avait mis en relation avec M. Matruchot. Ce Maître, dont je tiens à évoquer ici le souvenir ému et reconnaissant, m'accueillit avec cette bienveillance si connue de tous les débutants qui l'ont approché. Il voulut bien consacrer de longues heurea à l'examen de mes pré- Au laboratoire de M. Matruchot.

parations. Précisément, il se trouvait qu'à ce moment, dans des recherches en cours sur une petite Algue, le *Stichococcus bacillaris*, M. Matruchot avait mis en évidence une structure qui rappelait beaucoup celle des Levures que j'étudiais, et les résultats obtenus par M. Matruchot affermirent mes interprétations hésitantes. C'est grâce aux conseils judicieux de ce regretté Maître et à la haute compétence qu'il avait acquise par ses remarquables travaux sur les Champignons que je dois d'avoir réussi à achever mes recherches et à soutenir ma thèse de Doctorat.

Depuis lors, M. Matruchot a toujours suivi de très près mes travaux et n'a cessé de me donner les conseils les plus précieux pendant ma carrière scientifique. Après ma soutenance de thèse, il me fit l'honneur de me réserver une place dans le laboratoire dont on venait de lui confier la direction à l'École Normale Supérieure. C'est dans ce laboratoire que, pendant longtemps, je m'installai pendant plusieurs mois, chaque année, pour y achever mes recherches commencées à Lyon. Les souvenirs des heures passées là, dans le contact le plus intime avec la pensée de M. Matruchot, sont parmi les plus agréables et les plus fructueux de ma vie scientifique.

Sexualité et phylogénie des Levures.

L'orientation de mes recherches a été d'abord dirigée dans le domaine des Champignons, sous l'influence de M. Matruchot et de l'Institut Pasteur.

L'étude des Levures m'a offert une mine inépuisable, qui, pendant dix ans, a occupé toute mon activité scientifique. Cette étude m'a permis de mettre rapidement en évidence, dans ce groupe de Champignons, l'existence de phénomènes sexuels qui y étaient insoupçonnés, et qui, par leur diversité, leurs caractères spéciaux et toute une série de formes régressives aboutissant finalement à la parthénogénèse, offraient un grand intérêt au point de vue biologique.

La découverte de la sexualité avait pour conséquence de résoudre le problème tant cherché depuis Pasteur de l'origine des Levures. Ces résultats m'ont conduit à aborder ensuite l'étude du développement et de la sexualité d'un autre groupe d'Ascomycètes inférieurs ou Protoascées, très voisin des Levures, les Endomycétacées, dont la connaissance était restée dans l'ombre. L'étude complète de ce groupe, que j'ai pu réaliser, m'a permis d'établir une liaison plus étroite entre les Levures et les autres représentants des Ascomycètes, et, par là, de jeter un jour nouveau sur le problème jusqu'alors impénétrable de la phylogénie des Levures.

L'ensemble de ces faits a été ensuite rassemblé dans un livre intitulé : *les Levures*, dont M. Mangin a bien voulu me confier la rédaction, dans l'Encyclopédie Scientifique, et qui vient d'être traduit en Amérique.

Recherches sur les corpuscules métachromatiques.

A la suite de mes recherches sur les Levures et les Ascomycètes inférieurs, j'ai été amené vers une série d'idées qui ont été le point de départ d'autres recherches poursuivies entre temps. C'est ainsi que j'ai pu mettre en évidence, dans les Levures, la présence de nombreuses granulations déjà signalées, mais mal interprétées, que j'ai identifiées aux corpuscules métachromatiques depuis longtemps décrits par M. Babès dans les Bactéries. L'importance que paraissaient avoir ces formations dans les Levures et les Bactéries me conduisit à rechercher leur présence dans toute la série végétale, afin d'essayer de préciser leur rôle.

Ces recherches, qui m'ont amené à observer l'évolution des grains d'aleurone des graines, m'ont permis de constater la présence des corpuscules métachromatiques dans tous les Végétaux inférieurs (Bactéries, Algues, Champignons), ainsi que dans les Protozoaires, et de montrer que ces corps se comportent comme des produits de réserve.

Cette question présentait un certain intérêt, car elle ouvrait de nouveaux aperçus relatifs à la signification des corpuscules métachromatiques dans les Bactéries : les Bactériologistes livrés à leurs propres ressources, sans le secours des résultats obtenus en Cytologie générale, leur avaient donné des interprétations contradictoires et erronées. D'abord interprétés comme des spores, puis comme des noyaux, les corpuscules métachromatiques étaient considérés par un grand nombre de Bactériologistes, entre autres par Behring, comme des toxines.

L'étude de l'évolution des corpuscules métachromatiques dans l'épiplasme des Ascomycètes supérieurs m'a fourni l'occasion en même temps d'aborder l'étude de la formation des asques et des mitoses de l'asque, et ainsi obtenir quelques données précises sur l'évolution nucléaire, si controversée, de ces Champignons.

Etude cytologique des Cyanophycées et des Bactéries.

Enfin, l'expérience que j'avais pu acquérir par mes études sur la Cytologie fine des Levures me donna l'idée d'aborder la même question chez les Cyanophycées et les Bactéries, les seuls êtres vivants où la présence d'un noyau était contestée. Dans les recherches effectuées sur les Cyanophycées j'ai pu démontrer l'existence dans ces Végétaux, les plus inférieurs que l'on connaisse, d'une structure très primitive, avec un noyau rudimentaire, mais incontestable. Par contre, mes recherches sur les Bactéries n'ont pu aboutir à mettre en évidence un noyau dans ces microorganismes, et j'ai dû me rallier à l'opinion de Schaudinn et admettre l'existence d'un noyau diffus, ce qui, évidemment, n'est qu'une hypothèse.

Etude des mitochondries.

La nature de mes recherches m'avait depuis longtemps mis en relation avec le Laboratoire d'histologie de la Faculté de Médecine de Lyon, dirigé par M. Renaut, et où M. Regaud, aujourd'hui directeur du Laboratoire de radiobiologie de l'Institut Pasteur, exerçait les fonctions d'agrégé.

C'est, il y a une dizaine d'années, après avoir achevé mes travaux sur les Protoascées, que, sous l'influence de M. Regaud, et, un peu plus tard, sous celle de M. Henneguy, j'ai suivi une nouvelle orientation et que je me suis attaché aux questions relatives à la constitution morphologique du cytoplasme. M. Regaud venait de terminer ses importantes recherches sur les mitochondries dans les cellules animales, et d'instituer une nouvelle et précieuse technique portant le nom de « méthode de Regaud », que j'ai appliquée aux tissus végétaux, ce qui m'a permis de résoudre l'importante question de l'origine et de l'évolution des petits organites connus dans les cellules des Végétaux, depuis les remarquables travaux de William Schimper, sous les noms de plastes, plastides ou leucites.

C'est cette question des mitochondries sur laquelle s'est exercée presque exclusivement mon activité dans ces dix dernières années. Cette étude, plus vaste que toutes celles que j'avais abordées jusqu'ici, m'a permis de constater l'existence, dans toute

la série végétale, de mitochondries, organites constitutifs de la cellule, doués du pouvoir de se diviser, paraissant jouer un rôle essentiel dans la physiologie cellulaire, et de démontrer que les plastes, dans lesquelles s'élabore la chlorophylle et qui deviennent les grains de chlorophylle, ne sont pas autre chose que des mitochondries.

Origine et évolution des grains de chlorophylle.

L'origine et l'évolution des grains de chlorophylle, bien connus seulement dans leur forme définitive, étaient restées très obscures et très controversées, surtout dans les Phanérogames, parce que l'on ne connaissait pas jusqu'alors de technique propre à leur conservation et à leur coloration. Grâce à mes travaux, et, dans ces dernières années, à ceux de mes élèves que j'ai dirigés dans cette voie, afin de hâter la solution de ce problème trop étendu pour mes seules recherches, j'ai pu, je crois, établir une connaissance plus exacte de la structure de la cellule végétale et des éléments constitutifs du cytoplasme, en particulier des mitochondries et des vacuoles. Ces études m'ont amené à la conclusion que la cellule végétale offre une structure tout à fait semblable à celle de la cellule animale, avec cette seule différence qu'elle possède une variété spéciale de mitochondries qui a le pouvoir d'élaborer de la chlorophylle. Personne ne contestera que cette question, en dehors de son intérêt biologique général, offre, au point de vue le plus strictement botanique, une importance considérable, puisqu'il s'agit de l'étude des organites cellulaires qui servent de substratum à la chlorophylle et qui sont le siège de la photosynthèse, cette fonction qui domine toute la physiologie des Végétaux verts.

Observations cytologiques sur les cellules vivantes.

Enfin, cette étude m'a amené à trouver des cellules comme celles de l'épiderme de certaines fleurs de Monocotylédones, particulièrement favorables aux observations directes, sur le vivant, sans l'intervention de colorants ou de réactifs microchimiques; j'ai pu ainsi réaliser les observations vitales les plus importantes qui aient été faites jusqu'ici, apporter une contribution à l'étude de la fixation du cytoplasme et apprécier la valeur des techniques cytologiques. J'ai insisté sur l'intérêt des études vitales trop négligées jusqu'alors, et, par là, je pense avoir contribué à donner à la Cytologie une nouvelle orientation. J'ai eu, depuis, la grande satisfaction de constater que j'avais été suivi dans cette voie, et depuis 1913, date de mes premières recherches, les observations vitales se sont multipliées, aussi bien en Cytologie végétale qu'en Cytologie animale. Enfin, grâce à l'impulsion donnée par ces recherches, la question de la constitution morphologique de la cellule végétale a été l'objet d'un nombre considérable de travaux, aussi bien en France qu'à l'étranger.

L'étude de ces questions a fourni, en outre, d'utiles documents sur le mode de production des pigments anthocyaniques et des tannoïdes, ainsi que les phénomènes cytologiques de la plasmolyse.

Classification des Protoascées et espèces nouvelles.

Telles sont les questions sur lesquelles ont porté mes efforts. A la lecture de cet exposé, on voit que mon activité a été surtout dirigée du côté de la Biologie végétale. Mais je n'ai jamais négligé pour cela les études de taxinomie qui doivent toujours rester, selon moi, l'objectif du Botaniste. Par exemple, les résultats de mes recherches sur les Protoascées ont apporté une importante contribution à la connaissance de la taxinomie et de la phylogénie des Ascomycètes.

J'ai en outre eu l'occasion, au cours de mes recherches, de consacrer de nombreuses monographies à des espèces nouvelles de Champignons.

Cytologie et Biologie générale.

D'ailleurs, les études de morphologie et de systématique pures ont été poussées suffisamment loin, et ont amené, pour ce qui concerne les Végétaux supérieurs, à des résultats assez étendus pour que, sans les négliger, il soit à désirer que l'orientation de la Botanique se dirige plutôt du côté de la Biologie générale et de la Cytologie où il reste encore tant à chercher.

Les travaux modernes sur les Cryptogames inférieurs montrent que toutes les questions d'organogénie et de sexualité n'ont reçu de solution que par la Cytologie et il est certain que tous les progrès à venir sur cette question sont étroitement liés aux études histologiques.

D'autre part, il m'a toujours paru que la Biologie a été beaucoup trop négligée des Botanistes et qu'il reste en elle un champ inépuisable aux investigations. A ce point de vue, les Zoologistes sont très en avance sur les Botanistes. Et cependant, n'est-ce pas dans les Végétaux plus simples, plus favorables aux méthodes expérimentales, qu'il faut chercher la solution de beaucoup de problèmes ardus de Biologie ?

L'histoire de la Biologie l'a prouvé, car il ne faut pas oublier la part considérable que l'étude des Végétaux a eue dans la plupart des grandes découvertes de cette science. C'est aux études de Pasteur sur la physiologie des Levures, puis à celles de son élève Raulin sur le *Sterigmatocystis nigra,* que l'on doit les fondements de nos connaissances actuelles sur la nutrition. C'est dans la cellule végétale que de Vries a pu établir les lois biologiques de l'osmose. C'est la cellule végétale qui a permis à Strasburger de découvrir la karyokinèse. C'est encore enfin cette même cellule végétale dans laquelle William Schimper a mis en évidence pour la première fois les mitochondries. Enfin ce sont les Végétaux qui ont été le point de départ des découvertes de Mendel sur lesquelles se sont édifiées les connaissances les plus précises que nous possédions actuellement sur l'hérédité. Et c'est encore dans les Végétaux que de Vries a observé les importants phénomènes connus sous le nom de « mutations », point de départ d'une nouvelle doctrine évolutionniste.

Au cours de mes recherches, j'ai largement bénéficié de mes relations avec des maîtres éminents tels que MM. Alfred Giard, Edmond Perrier, Ranvier, Roux, Guignard, Henneguy, Mangin, Depéret, Molliard, Lecomte, Costantin, Caullery et Mesnil. Ces savants m'ont toujours honoré de leurs conseils et de leur appui, et je n'oublie pas ce que je leur dois. Enfin, c'est un devoir pour moi d'exprimer ici ma respectueuse reconnaissance à M. Gaston Bonnier, qui a toujours été pour moi un Maître dévoué.

Enseignement à la Faculté des Sciences de Lyon.

L'enseignement de la Botanique agricole qui m'a été confié en 1913 par l'Université de Lyon, enseignement pour lequel j'étais mal préparé par mes recherches, a eu l'avantage de m'obliger à me tenir au courant de questions qui m'étaient peu familières. Ces leçons, ainsi que celles que j'ai dû faire de 1915 à 1917, en enseignant la Botanique générale à la Faculté de Lyon, m'ont été très utiles pour acquérir l'habitude du Professorat.

Préparation à l'Agrégation des Sciences naturelles.

J'ai dû, d'autre part, pendant plusieurs années, à la demande des élèves et à titre officieux, m'occuper de la préparation au concours d'Agrégation des Sciences naturelles pour la partie botanique. Chaque année, j'ai consacré une série de Conférences sur les sujets du programme spécial de ce concours. J'ai demandé aussi à quelques-uns de mes élèves de recherches de contribuer à la préparation de ces candidats, en leur faisant traiter eux-mêmes les questions du programme qui étaient de leur compétence. Ainsi s'établissait une liaison utile entre ces deux catégories d'élèves : les élèves de recherches s'exerçaient à l'Enseignement et rendaient service en même temps à leurs camarades d'Agrégation, en leur évitant des recherches biographiques inutiles. Enfin j'ai cherché à attirer au laboratoire des élèves d'Agrégation, de manière à les mettre plus en contact avec les recherches, et à rendre ainsi à leur préparation un caractère moins théorique et plus objectif. Il faut, semble-t-il, rapprocher le plus possible ces candidats des objets de leurs études, soit dans le laboratoire par le microscope, soit dans la nature par des excursions. Les cinq candidats à l'Agrégation qui ont suivi cet Enseignement ont tous été reçus.

Elèves de recherches.

La Faculté des Sciences de Lyon bénéficie, par le contact de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, si importante par le nombre de ses élèves, de ressources inépuisables, car elle a la facilité de recruter, non seulement des élèves qui lui sont propres, mais encore des étudiants en médecine et en pharmacie désireux de compléter leurs études par des recherches de science pure, et plusieurs de ces élèves m'ont demandé de les guider dans leurs travaux. J'ai donc eu la joie d'initier ces jeunes gens à la recherche scientifique, ce qui est, à mon avis, la plus belle tâche de l'Enseignement supérieur. Les recherches de plusieurs d'entre mes élèves ont contribué à résoudre d'importants problèmes de Biologie végétale, et deux thèses de Doctorat ès Sciences sont sorties récemment de mon laboratoire.

Lyon, août 1921.

EXPOSÉ ANALYTIQUE DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES

I. — RECHERCHES SUR LES PROTOASCÉES

(ENDOMYCÉTACÉES, SACCHAROMYCÉTACÉES)

DÉVELOPPEMENT, SEXUALITÉ, TAXINOMIE ET PHYLOGÉNIE

A. — CYTOLOGIE DES LEVURES

[**1, 2, 3, 6, 7, 17, 23, 56, 66, 124**]

1° *Structure générale.* — Au moment où j'ai abordé ces recherches qui ont fait l'objet de ma thèse de Doctorat ès Sciences, la cytologie des Levures était fort mal connue, et l'on discutait la question de l'existence du noyau. Trois opinions partageaient les auteurs : 1° la première considérait les Levures comme des Champignons de structure primitive dépourvus de noyau véritable, mais renfermant des granulations chromatiques disséminées dans la cellule, constituant un noyau diffus semblable à celui qu'on a décrit dans les Bactéries; 2° la seconde admettait, au contraire, l'existence dans les Levures d'un noyau typique; 3° la troisième venait d'être formulée par Wager et avait le mérite de concilier les deux autres théories : elle attribuait aux Levures un noyau constitué par une vacuole remplie de grains de chromatine (grains de chromatine ou noyau diffus des auteurs) et un nucléole toujours accolé à la vacuole et de structure homogène (noyau des auteurs); l'ensemble de cette vacuole remplie de chromatine et de ce nucléole excentrique constituait le noyau des Levures, noyau d'organisation rudimentaire correspondant à un stade primitif de l'évolution phylogénitique du noyau.

La question méritait donc d'être reprise et offrait un grand intérêt au double point de vue de la cytologie générale et de la taxinomie des Levures.

Pour résoudre ce délicat problème, j'ai procédé par comparaison; j'ai abordé d'abord la structure de Champignons, plus favorables que les Levures par leurs

dimensions, tels que diverses Mucédinées dont quelques-unes *(Dematium)* comportaient dans leur développement des formes Levures. J'ai ensuite abordé comparativement l'étude des Levures les plus diverses. Enfin j'ai employé les techniques les plus variées.

Par cette méthode, j'ai pu démontrer que les Levures offrent une structure

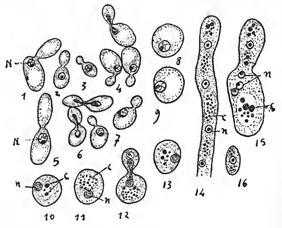


Fig. 1. — Structure de Levures.

1 à 8, *Saccharomyces ellipsoideus.* La coloration ne montre que le noyau (N) et sa division par amitose (4 et 6). — 9-10, *Saccharomyces cerevisiæ.* La coloration ne montre que le noyau. — 11 à 13, *Id.*, noyau *(n)*, et corpuscules métachromatiques *(c)* situés dans la vacuole. — 14, Filament de *Dematium* species. — 15, Forme levure du même Champignon, à plusieurs noyaux. — 16, Forme levure du même Champignon, uninucléé : *(n)* noyau, *(c)* corpuscules métachromatiques.

absolument semblable à celle des autres Champignons [**2, 6, 7, 17, 66**]. Les levures possèdent un noyau bien caractérisé qui, lorsqu'il est convenablement coloré, montre sa structure, constituée par une membrane colorée, un nucléoplasme incolore, un assez gros nucléole et de la chromatine sous forme de grains ou de travées dans le nucléoplasme (fig. 1, 1 à 9, N). Ce noyau, qui correspond au nucléole de Wager, se divise toujours par amitose pendant le bourgeonnement (fig. 1, 4, 6 et 12). En dehors de ce noyau, on trouve constamment dans les cellules de Levures des vacuoles variant beaucoup de nombre et de dimensions selon le stade de développement. Ces vacuoles, qui n'offrent aucune relation topographique avec le noyau, renferment un grand nombre de granulations fortement colorables (grains de chromatine des auteurs) qui

n'ont pas les caractères microchimiques de la chromatine (fig. 1, 10 à 13, c). J'ai pu les identifier aux granulations très répandues dans les Bactéries, et décrites par Babès sous le nom de *corpuscules métachromatiques*, nom que j'ai conservé.

La structure que j'ai mise en évidence dans les Levures correspond exactement à celle que l'on observe dans les autres Champignons chez lesquels la présence du noyau est depuis longtemps bien établie. Je l'ai comparée à celle de diverses Mucédinées *(Dematium* et *Oidium lactis)* [**1**]; dans ces Champignons, les articles offrent des noyaux de mêmes dimensions et de même aspect que celui des Levures, et des vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques (fig. **1**, 14 à 16); la seule différence est qu'il y a toujours plusieurs noyaux par article, tandis que dans les Levures on ne constate qu'un seul noyau par cellule. Les oïdies de l'*Oidium lactis*, qui ressemblent beaucoup aux Levures de *Schizosaccharomyces*, sont toujours plurinucléées [**1**]. Au contraire, les formes Levures de *Dematium* offrent en général un unique noyau, sauf dans quelques cas; la structure des Levures des Ustilaginées ne diffère pas de celle des véritables Levures : on y trouve un seul noyau.

La structure des Levures montre de grandes modifications au cours du développement, qui se manifestent par des variations de chromaticité du noyau et surtout par des phases à petites et nombreuses vacuoles, suivies d'autres à une seule grosse vacuole provenant de la fusion des petites. Dans la période la plus active de la fermentation, la cellule se remplit de glycogène : celui-ci occupe presque tout son volume, présentant l'aspect d'une énorme vacuole refoulant à la périphérie le noyau et le cytoplasme. La cellule est ainsi transformée en sorte de glande à glycogène.

On observe presque toujours dans le cytoplasme des granulations sidérophiles, de formes irrégulières et confuses, que je n'avais pas observées dans mes premières recherches, et qui ont été mises en évidence depuis par Kohl et Pénau. Ces formations ont fait l'objet ensuite d'une étude de ma part [**56, 66**]. Je les ai désignées sous le nom de *grains basophiles*. Ces granulations, qui ne se colorent pas sur le vivant et ne se différencient guère que par la méthode de Heidenhain, pourraient correspondre à des mitochondries altérées par les fixateurs.

2° *Phénomènes cytologiques de la sporulation* [**3, 4, 6, 7, 17, 124**]. — La sporulation a fait l'objet de ma part d'une étude détaillée : elle présente partout les mêmes caractères que je puis résumer, en prenant comme exemple le *Saccharomycodes Ludwigii*, où l'asque forme quatre ascospores. Dans les cellules qui se préparent à sporuler, on constate une vacuolisation du cytoplasme qui prend un aspect alvéolaire. Le noyau situé sur le côté de la cellule est entouré d'une zone de cytoplasme dense et très chromophile (fig. 2, 1 à 6). Sa division est impossible à observer; on constate seulement la présence, dans le cytoplasme qui entourait le noyau, de deux petits noyaux issus de la première division; puis ceux-ci émigrent aux deux pôles de la cellule, entraînant avec eux une partie du cytoplasme qui les entoure, et y subissent une deuxième division. Bien qu'il ne soit pas possible de suivre les processus de ces divisions, certaines raisons me font penser qu'elles s'effectuent par mitose. Les quatre

petits noyaux résultant de la seconde division restent disposés par paires aux deux pôles de la cellule. Ils s'entourent chacun d'une petite zone de cytoplasme très dense qui, bientôt, se délimite par une paroi, et ainsi se constituent quatre ascospores, d'abord très petites, qui, peu à peu, grossissent en absorbant l'épiplasme, et finissent par occuper tout le volume de l'asque. Parvenues à l'état de maturité, ces ascospores montrent de petites vacuoles et un noyau situé sur le côté.

Les phénomènes cytologiques de la sporulation sont très comparables à ceux qui se produisent dans les Ascomycètes supérieurs.

J'ai pu suivre plus tard [**124**] la division nucléaire dans l'asque du *Schizosaccharomyces octosporus*; celle-ci est incontestablement une mitose semblable à celle que l'on connaît dans les Ascomycètes supérieurs (fig. 3, voir p. 36).

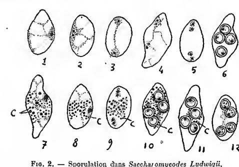


Fig. 2. — Sporulation dans *Saccharomycodes Ludwigii.*

1 à 6, *Division nucléaire et formation des ascospores dans une préparation où les noyaux sont seuls colorés.* — 1, Cellule se préparant à la sporulation. — 2 et 3, Stades suivant la première division et émigration des deux noyaux-fils, ainsi que du cytoplasme qui les entoure, aux deux pôles. — 4, Stade suivant la seconde division. — 5, Délimitation des ascospores. — 6, Asque parvenu à maturité. — 7 à 12, *Mêmes stades dans une préparation où les corpuscules métachromatiques* (c) *ont été colorés.* — On constate que ces corps, très nombreux dans l'épiplasme, sont absorbés par les ascospores (10 à 12).

La plupart de mes résultats ont été vérifiées [**56**] par les recherches de Marpman, Feinberg, Henneberg, et surtout de Kohl et de Pénau. Enfin, à l'époque où j'ai publié ma thèse de Doctorat ès Sciences, et où j'exposais ces résultats, MM. Matruchot et Molliard observaient, dans une petite Algue, le *Stichococcus bacillaris*, une structure semblable à celle des Levures, avec un noyau de même forme et des vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques. Les résultats de mes recherches sur cette question sont aujourd'hui admis sans contestation par tous les Botanistes.

3° *Caractères histochimiques, évolution et rôle des corpuscules métachromatiques* [**2, 3, 6, 7, 56, 66**]. — J'ai consacré une importante partie de mes recherches à l'étude

des caractères histochimiques et de l'évolution des corpuscules métachromatiques. Ces éléments, toujours localisées dans les vacuoles, sont parfois visibles sur le vivant, sous forme de petits grains assez réfringents et animés de mouvements browniens. Ils ont le pouvoir de fixer la plupart des colorants vitaux (bleus de méthylène et de Nil, rouge neutre), qui les font apparaître à l'état de granulations, de dimensions très variables, vivement colorées, animées de mouvements browniens; le suc vacuolaire tout entier prend, en général, une teinte diffuse, ce qui semble montrer qu'ils sont aussi à l'état de solution. Après fixation à l'alcool, au formol, par des mélanges alcooliques de sublimé et d'acide acétique, ou par la flamme, ils montrent une vive affinité pour les teintures basiques bleues et violettes d'aniline, ainsi que pour l'hématéine, qui leur donnent une coloration métachromatique rougeâtre. Les fixateurs renfermant de l'acide picrique, et surtout les liquides chromo-osmiques, diminuent cette électivité pour les colorants. Les corpuscules métachromatiques ne se colorent pas électivement par l'hématoxyline ferrique.

Fig. 3. — Mitoses dans l'asque de *Schizosaccharomyces octosporus*.

a, Noyau à l'état de repos. — *b*, Plaque équatoriale : le fuseau achromatique est situé dans l'intérieur du noyau et limité aux deux pôles par un centrosome. — *c*, Anaphase. — *d*, Télophase : la membrane nucléaire est résorbée et le fuseau s'étire; les chromosomes sont réunis aux deux pôles en une masse chromatique homogène. — *e*, Les deux noyaux-fils sont constitués, mais le nucléole du noyau-père subsiste entre eux dans le cytoplasme. — *f* et *g*, Télophases de la seconde mitose. — *h*, Télophases de la troisième mitose.

Ces corpuscules paraissent exister dans tous les Champignons et aussi dans les Algues où ils ont été décrits par Bütschli, sous le nom de *grains rouges*.

Au cours de la sporulation, ils deviennent très nombreux et s'accumulent dans l'épiplasme avec du glycogène et des globules graisseux; ils sont peu à peu absorbés par les ascospores, après avoir subi une sorte de pulvérisation et de dissolution (fig. 2, 7 à 12). Ces corpuscules offrent la même évolution que le glycogène et les globules graisseux et, par conséquent, paraissent jouer le rôle de produits de réserve.

Mes recherches sur les corpuscules métachromatiques sont résumées, dès 1901, dans des Notes préliminaires, puis développées dans ma thèse (1902). Elles ont fait connaître pour la première fois les caractères microchimiques, l'évolution et le rôle de ces corps qui, en raison de leur fréquence et de leur abondance, paraissent jouer un rôle important dans la vie des Champignons. Ces résultats ont été confirmés ensuite par les recherches de M. Arthur Meyer (1904), puis par un grand nombre d'auteurs. Ils paraissent aujourd'hui bien établis.

B. — SEXUALITÉ DES LEVURES

[3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 22, 23, 27, 68, 69, 70, 71, 114, 125, 145, 162, 166, 167].

Bien que l'existence d'une sexualité dans les Levures ait été soupçonnée par Schiönning et Hoffmeister, il est incontestable que c'est dans ma Note du 22 juillet 1901 que cette sexualité a été démontrée pour la première fois, et que c'est à peu près exclusivement aux recherches que j'ai poursuivies pendant vingt ans sur cette question que l'on doit l'ensemble de nos connaissances sur la sexualité des Levures.

Janssens et Leblanc avaient décrit dans les cellules qui se préparent à sporuler une division préalable du noyau, bientôt suivie de fusion des deux noyaux-fils, et ils assimilaient ce phénomène à la karyogamie décrite par Dangeard dans les Exoascées, et lui attribuaient la valeur d'un acte sexuel. Mes observations [**3, 6, 7, 17**] ne m'ont pas permis de vérifier ce fait et ont démontré l'absence de karyogamie dans les Levures.

1° *Copulation à l'origine de l'asque. Isogamie* [**4, 5, 6, 7, 27**]. — Par contre, mes recherches ont démontré, dès 1901 (22 juillet [**4**]), l'existence d'une copulation isogamique au moment de la sporulation dans un groupe spécial de Levures, les *Schizosaccharomyces*, qui se distinguent des autres par leur mode de multiplication s'effectuant par cloisonnement transversal et non par bourgeonnement. Schiönning avait déjà constaté que, dans une des espèces de ce groupe, le *Sch. octosporus*, les asques dérivent de la fusion de deux cellules, mais il n'avait donné aucune interprétation à ce phénomène. Une courte observation d'Hoffmeister était favorable à l'idée d'un acte sexuel.

J'ai repris l'étude [**4, 5, 6, 7, 27**] de cette Levure en suivant son développement à partir de l'ascospore jusqu'à la formation des asques, la cultivant en chambre humide, sur moût de bière gélosé. Des ascospores ensemencées dans ce milieu ne tardent pas à germer et produisent des cellules végétatives (fig. 4, A, *a*, *b*, *c*) qui se multiplient très activement pendant les deux premiers jours, puis, vers le troisième jour, la muliplication se ralentit : les cellules sont alors réunies les unes aux autres en petites colonies (fig. 4, A, *d*). C'est à ce moment que commence la copulation. Deux cellules identiques et souvent contiguës d'une même colonie se réunissent l'une à l'autre au moyen d'un canal de copulation formé par la soudure de deux petits becs émis par chacune d'elles (fig. 4, A, *d* et B). La cloison mitoyenne qui sépare les deux cellules au milieu de ce canal ne tarde pas à se résorber ; puis les cellules achèvent généralement leur fusion et ne forment bientôt plus qu'une grosse cellule ovale qui se transforme en asque à 4 ou 8 ascospores. Parfois la fusion des gamètes n'est pas complète et l'asque conserve un léger rétrécissement médian qui indique leur point d'union.

L'étude de ces phénomènes sur frottis fixés et colorés m'a permis de constater avec la plus grande précision la fusion nucléaire qui accompagne la fusion des gamètes et de démontrer qu'il s'agit bien d'un phénomène sexuel (fig. 4, C).

Une particularité très curieuse, qu'il est nécesssaire de faire remarquer en raison de son importance biologique, est le fait que la copulation s'effectue généralement entre les quelques cellules d'une même colonie, par conséquent entre des cellules très proches parentes et quelquefois provenant de la division d'une même cellule, c'est-à-dire entre gamètes frères.

Cependant, il n'en est pas toujours ainsi. En effet, après de longues cultures au

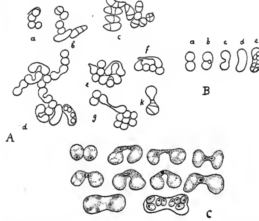


Fig. 4. — Copulation isogamique dans *Schizosaccharomyces octosporus*.

A, Développement de la levure en chambre humide : *a*, ascospores gonflées et sortant de l'asque; *b* et *c*, colonies issues de la germination de ces ascospores; *d*, même colonie plus âgée dans laquelle s'effectue la copulation ; e, *f*, *g*, copulation dans une race tendant à devenir asporogène , *k*, essai infructueux de copulation, suivi de cloisonnement. — B, Stades successifs de la copulation et de la sporulation. — C, Stades successifs de la copulation et de la sporulation sur une préparation colorée; on y peut constater la fusion nucléaire.

laboratoire, la Levure montre une tendance à perdre sa faculté de sporuler et arrive même à devenir asporogène, après un temps plus ou moins long de culture. Dans les races en voie de subir cette transformation, le nombre des cellules asporogènes augmente donc aux dépens des cellules sporogènes qui deviennent de moins en moins nombreuses. Ces dernières se trouvant isolées dans une colonie, au milieu de cellules ayant perdu la fonction sporogène, devront alors, pour réaliser leur union, chercher à s'anastomoser à des cellules sporogènes de colonies situées à leur voisinage. A cet effet, elles poussent de longs tubes qui vont à la recherche les uns des autres et au moyen desquels s'effectue la copulation entre deux cellules éloignées (fig. 4, *e*, *f*, *g*).

Souvent elles échouent dans leurs tentatives d'union : en ce cas, le tube qu'elles ont formé se cloisonne en petites cellules qui se dissocient (fig. 4, *k*).

Quoi qu'il en soit, la copulation s'effectue normalement entre des cellules très proches parentes de la même colonie, et ce fait est en désaccord avec les théories généralement admises. On sait qu'on admet que la fécondation s'effectue de préférence entre deux éléments de parenté très éloignée et l'on explique son utilité par l'avantage que présente le mélange de cellules possédant des caractères héréditaires dissemblables. A l'époque où j'ai fait connaître ces résultats, des phénomènes de cet ordre n'avaient

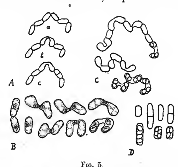


Fig. 5.

A, Stades successifs de la copulation dans *Schizosaccharomyces Pombe*, en chambre humide. — B, *Id.*, sur une préparation fixée et colorée. — C, Copulation et formation de l'asque dans *Schizosaccharomyces mellacei*. — D, Cellules végétatives et asques dans la forme parthénogénétique de *Schizosaccharomyces mellacei*.

été signalés que très rarement. La copulation que j'ai décrite dans le *Sch. octosporus* a été l'un des premiers exemples de ces phénomènes que les Allemands ont désignés sous le nom d'autogamie. Depuis, l'autogamie a été fréquemment observée dans divers Protistes (Champignons, Protozoaires, Algues, etc.).

J'ai démontré, en outre [**4**, **5**, **6**, **7**, **11**, **17**, **27**], l'existence d'une copulation semblable dans les deux autres représentants, connus à ce moment, du genre *Schizosaccharomyces*, *Sch. Pombe* et *Sch. mellacei*, où l'existence de ces phénomènes était insoupçonnée. Dans ces dernières Levures, la fusion des gamètes est en général incomplète et l'asque conserve la forme de deux renflements unis par un col étroit. La fusion nucléaire s'opère dans le canal de copulation, puis le noyau qui en résulte ne tarde pas à se diviser : les deux noyaux-fils émigrent ensuite dans les deux renflements et y subissent une seconde division. Les ascospores, au nombre de quatre, se forment par deux dans chacun des renflements de l'asque (fig. 5, A, B et C).

La parthénogénèse, fort rare dans le *Sch. octosporus*, est au contraire fréquente dans ces deux Levures [**11**]. Enfin, dans une variété de *Sch. mellacei* [**11**], provenant du

laboratoire de Beyerinck, j'ai constaté que la parthénogénèse était devenue générale. Les asques se produisaient dans des cellules ordinaires, sans copulation préalable[1] (fig. 5, D).

Exactement à la même époque où je décrivais ces exemples de copulation, Barker (8 juillet 1901) démontrait l'existence de phénomènes semblables dans une nouvelle espèce bourgeonnante, isolée d'une fermentation de Gingembre et qui a reçu le nom de *Zygosaccharomyces Barkeri*. La copulation s'effectue exactement comme dans les Levures précédentes et aboutit à la formation d'asques constitués par deux renflements unis par un col étroit. Les ascospores, au nombre de deux à quatre, naissent dans les deux renflements. Bien qu'hésitant à interpréter ces phénomènes, Barker incline à leur donner une valeur sexuelle. L'étude cytologique de cette Levure [**27**] m'a permis ensuite de démontrer l'existence d'une fusion nucléaire. Il s'agit donc bien d'une copulation.

Cette sexualité rencontrée chez quelques Levures ne me parut pas être une exception et l'examen des dessins représentés par certains auteurs me faisait présager l'existence de phénomènes semblables dans d'autres Levures. C'est ainsi que j'avais émis l'opinion [**52**], d'après les figures représentées par Lindner, que *Pichia farinosa* et *S. Bailii* devaient avoir une sexualité. J'avais aussi attribué une copulation à deux espèces isolées par Saito de la fermentation du Soja, la *Soja-Kahmhefe* et le *Sacch. Soja*. Ces présomptions étaient exactes et effectivement Saito annonça bientôt que les asques de la *Soja-Kahmhefe* dérivent d'une copulation et donna à cette Levure le nom de *Zygosaccharomyces japonicus*, mais il ne fournit aucune description du phénomène. Klöcker isola ensuite du corps des Abeilles le *Zyg. Priorianus*, puis plus tard trouva dans des échantillons de terre de Java une Levure pour laquelle il créa le genre *Debaryomyces*. A propos de cette espèce qu'il nomme *D. globosus*, Klöcker s'exprime ainsi : « Dans la plupart des cas, les spores se rencontrent dans les cellules reliées entre elles par un canal étroit. Il est probable que dans ces cas une fusion entre deux cellules s'est produite. »

Je me suis attaché à observer la copulation de ces diverses Levures [**63**, **68**, **69**, **89**]. Mes observations sur le *Zyg. japonicus* montrent que, dans cette Levure, la copulation s'opère par isogamie, exactement comme dans *Zyg. Barkeri*. Dans le *Zyg. Priorianus*, il résulte de mes recherches que la copulation, généralement isogamique, peut accidentellement s'effectuer entre deux cellules de dimensions très inégales, entre une grosse cellule mère et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement ; en ce cas, les ascospores se forment toujours dans la grande cellule.

Il résulte, en outre, de mes observations sur *Deb. globosus* que, dans cette espèce, les mêmes particularités se retrouvent d'une manière plus accentuée. J'ai constaté

[1] Depuis l'époque de mes recherches, le nombre des espèces du genre *Schizosaccharomyces* s'est accru. Nakazawa a décrit plusieurs nouvelles espèces *(Sch. Sautawensis, Sch. Formosensis*, et *Sch. Nokkoensis* : les deux premières offrent une copulation isogamique semblable à celle de *Sch. Pombe* et de *Sch. mellacei;* mais le *Sch. Nokkoensis* a perdu cette sexualité, et, chez lui, les asques se développent parthogénétiquement.

qu'environ 25 pour 100 des asques dérivent de la copulation de cellules de mêmes dimensions (fig. 6, A, *b*, et B, 1 à 4); l'asque renferme le plus souvent une seule ascospore qui naît dans l'une des cellules, mais il peut former aussi deux ascospores qui apparaissent chacune dans l'un des renflements. Tous les autres asques se forment par copulation entre une grosse cellule mère et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement (fig. 6, A, *a*, et B, 5 à 9); dans ce dernier cas, l'observation cytologique démontre

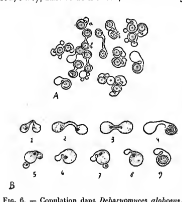


Fig. 6. — Copulation dans *Debaryomyces globosus*.

A, Asques développés en chambre humide. Les uns dérivent de la fusion de deux cellules égales *(b)*: tantôt ils renferment deux ascospores, situées chacune dans l'un des renflements, tantôt ils ne possèdent qu'une seule ascospore. D'autres asques *(a)* résultent de la fusion d'une grosse cellule avec l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement; ils n'ont alors qu'une seule ascospore. — B, Stades successifs de la copulation entre deux cellules égales et de la sporulation, sur une préparation colorée; 5 à 9, Stades successifs de la copulation entre une cellule-mère et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement.

que le contenu de la petite cellule passe dans la grosse où s'effectue la fusion nucléaire. L'asque ne donne alors qu'une seule ascospore, exceptionnellement deux qui se forment toujours dans la grosse cellule.

Comme la parthénogénèse est très fréquente dans cette Levure, j'avais d'abord pensé qu'il s'agissait dans ces fusions entre cellules inégales d'une sorte de régression de la sexualité [**69**]. Mes travaux ultérieurs ont montré au contraire qu'il faut les considérer comme des copulations hétérogamiques et que *D. globosus* est certainement une forme s'acheminant vers l'hétérogamie, laquelle devient la règle dans les autres espèces du même genre.

2° *Hétérogamie* [**69, 71, 89, 110, 114, 141, 145, 162, 166, 167**]. — Dans toutes les Levures dans lesquelles j'avais observé des phénomènes sexuels à l'origine de l'asque

dans mes premières recherches, la copulation se réduisait à l'isogamie. Cependant, dans le *Zyg. Priorianus* et dans le *Deb. globosus*, j'avais constaté parfois une tendance à l'hétérogamie. J'ai mis en évidence pour la première fois une hétérogamie bien caractérisée dans une Levure rapportée d'Afrique occidentale par la mission Chevalier et à laquelle j'ai donné le nom de *Zyg. Chevalieri* [**71**, **89**, **110**]. Ici les deux gamètes sont représentés par des cellules qui n'ont pas le même degré de développement et présentent par conséquent des dimensions sensiblement différentes (fig. 7). Le gamète mâle ou microgamète est une cellule très jeune, généralement un bourgeon venant de se détacher

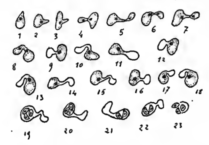


Fig. 7. — Stades successifs de la copulation hétérogamique dans *Zygosaccharomyces Chevalieri*.

1 à 3, Gamètes formant de petits becs en vue de s'unir à d'autres gamètes. — 4 à 7, Les deux gamètes sont anastomosés. — 8, La cloison séparatrice des deux gamètes au milieu du canal de copulation s'est résorbée, et les deux noyaux se rapprochent. — 9 à 18, Le contenu du gamète mâle s'est introduit dans le gamète femelle et la fusion nucléaire est opérée. — 19 à 22, Asques définitivement formés. — 23, Déhiscence de l'asque.

d'une cellule-mère; il est donc de très petite taille. Au contraire, le gamète femelle ou macrogamète est une cellule adulte. Les deux gamètes se soudent au moyen d'un canal de copulation; puis, tout le contenu du gamète mâle émigre dans le gamète femelle qui se transforme en asque renfermant de 2 à 4 ascospores. Quelques formes de transition entre l'isogamie et l'hétérogamie s'observent, dans lesquelles la différence de dimensions entre les deux gamètes est faible.

Dans des recherches, publiées très peu de temps après les miennes, Nadson et Konokotine ont décrit à leur tour, dans *Nadsonia (Guilliermondia) fulvescens* isolée du suintement muqueux d'un Chêne, une copulation hétérogamique semblable à celle que j'ai décrite dans *Zyg. Chevalieri.*

Mes recherches ultérieures ont montré que l'hétérogamie est très répandue chez les Levures. J'ai eu l'occasion, dans ces dernières années, d'observer un grand nombre de cas de copulations hétérogamiques dans des espèces nouvelles : dans une Levure isolée d'un sirop d'écorce d'oranges amères, le *Zyg. Nadsoni* [**114**, **139**], ainsi que dans les *Debaryomyces Nadsoni* et *Deb. Klöckeri* [**114**, **145**, **166**, **176**], isolés de malades par

le Dr Péju, et enfin [**162**] dans 13 espèces appartenant au genre *Debaryomyces* et isolées par M. Césari de saucissons et de viandes salées. Il est remarquable que dans toutes ces Levures la copulation s'effectue en général entre une cellule-mère et l'une des cellules-filles issues de son bourgeonnement et encore attachées à elle, par conséquent entre gamètes étroitement apparentés. Elle est donc comme dans les cas précédents autogamique (fig. 8). Cependant on constate aussi des copulations entre de grosses et de petites cellules qui, manifestement, ne dérivent pas les unes des autres (fig. 8, 9, 13

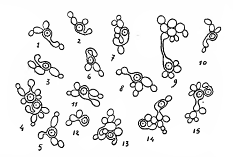


Fig. 8. — Copulation hétérogamique dans une Levure de saucisson (Levure B), en chambre humide.

On y voit que la copulation s'effectue en général entre cellules appartenant à une même colonie, formée par un certain nombre de cellules issues de bourgeonnement d'une même cellule-mère. Dans la figure 9 cependant, elle s'effectue entre cellules de deux colonies différentes.

et 15). Les gamètes paraissent suivre en général la loi du moindre effort et s'unir toujours avec le gamète le plus voisin, mais il peut se faire que cette union ne soit pas possible pour des raisons que nous ignorons, ce qui explique les exceptions à la règle parfois assez nombreuses. Les lois de différenciation sexuelle échappent à notre analyse.

J'ai fait connaître un autre exemple d'hétérogamie plus intéressant dans une espèce nouvelle, que j'ai isolée, le *Zyg. Pastori* [**141, 167**] (voir p. 30). Ici, au moment de la sporulation, les cellules offrent des dimensions très inégales : il y a de grosses cellules rondes, les plus anciennes, et de très petites cellules cylindriques plus récemment formées qui n'ont pu subir un développement complet par suite des mauvaises conditions d'alimentation. Presque toutes les cellules émettent de longs tubes au moyen desquels elles cherchent à s'anastomoser, mais l'union se fait avec la plus grande difficulté et la plupart des cellules forment plusieurs tubes dirigés en sens divers (fig. 9). Dans un certain nombre de cas, les cellules, souvent après plusieurs tentatives infructueuses, réussissent à s'unir : en ce cas le contenu de la petite cellule passe dans la grosse où se forment les ascospores. Beaucoup d'autres cellules ne parviennent pas à

s'anastomoser et se transforment en asques parthénogénétiques. Enfin la majorité des cellules renoncent à sporuler. En isolant les colonies d'une plaque de gélatine, j'ai pu obtenir des races asporogènes dans lesquelles les cellules cherchent à s'unir, sans y parvenir, au moyen de longs tubes, et ne produisent pas d'ascospores. Le *Zyg. Pastori* offre donc un exemple de Levure dans laquelle l'affinité sexuelle tend à s'affaiblir et où la fonction sporogène est en voie de s'éteindre.

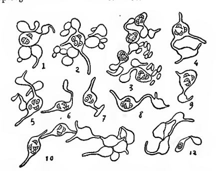


Fig. 9. — Copulation dans *Zygosaccharomyces Pastori.*

1 à 9, Quelques asques dérivés de copulation hétérogamique. On voit que les cellules qui se sont fusionnées ont souvent un ou plusieurs éperons, indices d'essais infructueux de copulation. — Dans 4, la copulation est presque isogamique. — 10 à 12, Essais infructueux de copulation et asques parthénogénétiques

3° *Régression de la sexualité* [**68**, **70**, **89**]. — Le *Zyg. Pastori* peut servir de transition entre les espèces précédentes et d'autres Levures dans lesquelles mes recherches ont établi que, bien que la sexualité ait disparu, il subsiste encore des vestiges d'attraction sexuelle. C'est le cas d'une espèce très curieuse, le *Schwanniomyces occidentalis* (Klöcker), dans laquelle j'ai montré [**68**] qu'avant de sporuler les cellules émettent chacune une sorte de diverticule plus ou moins allongé : ces cellules essaient de se réunir deux à deux, sans jamais y parvenir (fig. 10, B).

Peu de temps après cette observation, Ludwig Rose et Dombrowski ont retrouvé des processus semblables dans d'autres Levures, mais sans les décrire suffisamment. Dans l'une d'elles, que j'ai pu étudier grâce à la complaisance de M. Ludwig Rose, et que j'ai désignée sous le nom de *Torulaspora Rosei*, j'ai soigneusement étudié ce phénomène [**70**, **89**]. J'ai constaté que toutes les cellules se préparant à sporuler émettent des diverticules qui cherchent à s'anastomoser deux à deux (fig. 10, A). Le plus souvent, elles ne parviennent pas à se rejoindre, soit que leurs diverticules se dirigent en sens inverse, soit que les diverticules arrivés au contact de l'un et de l'autre continuent à s'allonger en s'entrecroisant. Cependant, dans un assez grand nombre de cas, les cellules

réussissent à s'accoler, mais la cloison qui les sépare ne se résorbe pas, en sorte que les deux cellules anastomosées se transforment chacune en asque sans s'être fusionnées. Il arrive souvent qu'une même cellule peut donner plusieurs diverticules sur différents points de sa surface, qui se dirigent en tous sens et parfois peuvent se ramifier. On obtient ainsi des formes très spéciales, déjà décrites dans certaines Levures, et dont la signification restait énigmatique. On assiste donc avec ces Levures à une régression de la sexualité[1], et l'on s'explique facilement que la majorité des Levures aient perdu

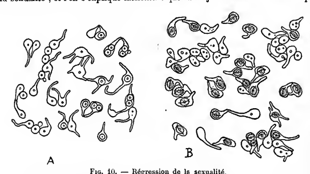


Fig. 10. — Régression de la sexualité.

A, Formation des asques dans *Torulaspora Rosei* : les asques se forment dans des cellules pourvues de longs diverticules, témoins des essais infructueux qu'elles ont faits en vue de s'unir. — B, *Id.*, dans *Schwanniomyces occidentalis*.

toutes traces de sexualité. On peut considérer celles-ci comme dérivées de Levures primitivement sexuées, et donner à leur asque la valeur d'un œuf parthénogénétique.

4° *Copulation des ascospores* [**5, 6, 7, 9, 10, 22, 23, 27, 52, 110, 125**]. — Mes recherches ont permis de mettre en évidence une autre forme de sexualité chez les Levures. Dans ses recherches sur la germination des ascospores des Levures, Hansen avait montré que les ascospores du *Saccharomycodes Ludwigii* germent par un mode spécial : au lieu de se gonfler simplement et de bourgeonner, elles se fusionnent le plus souvent deux à deux par un canal, et c'est au milieu de ce canal que s'effectue le bourgeonnement. Dans les germinations d'ascospores très âgées, cette fusion devient rare : les ascospores germent d'ordinaire isolément, en formant de longs tubes de

[1] Plus récemment, Saito a pu isoler, dans *Zyg. Mandshuricus*, des races parthénogénétiques qui n'offrent plus que des vestiges de sexualité. D'autre part, Charaboski a isolé une Levure asporogène, pour laquelle il a créé le genre *Asporomyces*, dont les cellules, à certaines phases du développement, essaient de se conjuguer au moyen de diverticules, sans jamais y parvenir; cette Levure a donc perdu de sa faculté de sporuler, mais conserve des vestiges d'attraction sexuelle.

germination qui se séparent ensuite en cellules végétatives et que Hansen compare au promycélium des Ustilaginées. L'auteur n'avait pas donné d'interprétation à cette fusion des ascospores.

J'avais essayé dans mes premières recherches [**5**, **6**, **7**] de reprendre l'étude de

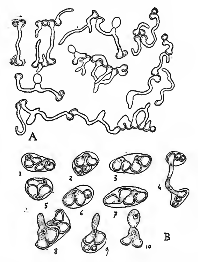


Fig. 11. — Copulation des ascospores dans *Saccharomycodes Ludwigii*.

A, Germination d'ascospores âgées : la copulation s'effectue le plus souvent entre ascospores appartenant à des asques différents; beaucoup d'ascospores ne parviennent pas à réaliser leur union. — B, Germination d'ascospores jeunes sur une préparation colorée : la copulation s'opère à l'intérieur de l'asque; 1 à 7, Stades successifs de la fusion des ascospores et de la fusion nucléaire qui l'accompagne; 8 à 10, Bourgeonnement issu de l'œuf; dans 4, on a représenté la copulation de deux ascospores appartenant à des asques différents.

ces fusions afin de savoir si elles ont un caractère sexuel, mais la variété de *S. Ludwigi* que je possédais et qui provenait du laboratoire Kral (Prague) ne présentait aucune fusion d'ascospores. M. Hansen ayant eu l'obligeance ensuite de m'envoyer une de ses cultures de *S. Ludwigii*, j'ai pu retrouver les fusions d'ascospores [**9**, **10**, **22**, **27**].

Les ascospores, ordinairement au nombre de quatre par asque, restent le plus souvent enveloppées par la paroi de l'asque jusqu'au début de la germination. Elles se gonflent, puis se fusionnent deux à deux dans l'intérieur de l'asque au moyen d'un canal de copulation (fig. 11); ce dernier donne ensuite naissance vers son milieu par

bourgeonnements successifs à une série de cellules végétatives qui se détachent à mesure qu'elles se forment. L'étude cytologique de ces fusions m'a permis de démontrer qu'elles sont toujours accompagnées d'une fusion nucléaire se produisant dans le canal de copulation ; elles offrent donc la signification d'un acte sexuel (fig. 11, B). La fusion s'effectuant en général entre les ascospores d'un même asque présente donc ici encore le caractère d'un phénomène autogamique (fig. 11, B, 1 à 9). Elle se produit même le plus souvent entre deux ascospores sœurs; il est facile de s'en assurer, car les deux ascospores provenant d'une même division nucléaire restent généralement accolées l'une à l'autre, ce qui permet de les distinguer. Toutefois, il n'en est pas toujours ainsi, car, dans la germination d'ascospores âgées, les fusions deviennent beaucoup plus rares, soit que les ascospores affaiblies ne germent pas aussi facilement les unes que les autres, soit que certaines d'entre elles aient perdu la faculté de germer. En ce cas, les ascospores forment de longs tubes qui essaient de se rejoindre sans toujours y réussir (fig. 11, B, 4 et A). Ces tubes déchirent la paroi de l'asque, puis, lorsqu'ils ne parviennent pas à s'unir, ils se cloisonnent et se dissocient en plusieurs cellules végétatives (fig. 11, A). Lorsqu'ils réussissent à s'unir, la fusion peut s'accomplir entre des ascospores provenant d'asques différents. Ces tubes germinatifs, que Hansen rapprochait du promycélium des Ustilaginées, ne représentent donc, d'après mes recherches, que des tentatives souvent infructueuses faites par les ascospores en vue de se fusionner. Ce sont des phénomènes de même ordre que ceux que l'on constate dans les races du *Sch. octosporus* en voie de perdre leur faculté de sporuler.

Même dans les germinations d'ascospores jeunes, on constate toujours qu'un petit nombre d'ascospores germent isolément sans se fusionner. On comprend donc facilement que certaines variétés de cette Levure soient susceptibles de perdre complètement leur pouvoir de se fusionner, comme la variété provenant du laboratoire Kral.

J'ai étudié en même temps [**22**, **27**] la germination des ascospores d'un certain nombre de Levures: *S. Pastorianus*, *S. cerevisiæ*, Levure de Johannisberg II, et *Willia Saturnus*. Dans les deux premières, je n'ai jamais constaté de fusions d'ascospores. Par contre, j'ai retrouvé des fusions d'ascospores dans la Levure de Johannisberg II et dans *Willia Saturnus*, où elles avaient été d'ailleurs signalées par Hansen et Klöcker. Celles-ci s'effectuent de la même manière que dans le *S. Ludwigii*, avec cette différence que les ascospores ne se fusionnent généralement qu'après rupture de la paroi de l'asque.

Mes recherches établissent donc l'existence dans certaines Levures d'un phénomène sexuel qui, au lieu de se produire comme dans les autres Levures à l'origine de l'asque, s'opère seulement à un stade ultérieur entre les ascospores elles-mêmes. Etant donné ce que l'on sait de la sexualité des autres Ascomycètes, on est obligé d'admettre que la sexualité primitive des Levures se trouve placée à l'origine de l'asque et que la fusion des ascospores représente seulement une sorte de phénomène compensateur de la sexualité ancestrale perdue [**52**, **62**] (parthénogamie des Allemands). Ce retard dans la sexualité a pour conséquence d'augmenter considérablement la phase sporophyte très raccourcie dans les autres Levures où, la sexualité se produisant à l'origine de l'asque, l'œuf doit être immédiatement le siège d'une réduction chroma-

tique s'opérant pendant les divisions nucléaires. Dans les Levures où la sexualité se trouve reportée à la germination des ascospores, les cellules végétatives issues du bourgeonnement de celles-ci constituent le sporophyte, le gamétophyte se trouvant réduit aux ascospores. Cette copulation des ascospores paraît se rencontrer fréquemment dans les Levures : je l'ai retrouvée dans plusieurs espèces nouvelles rapportées par la mission Chevalier *(S. Chevalieri, Mangini* et *Lindneri)* [**110**] (voir p. 28), ainsi que dans une Levure de la fermentation du Pulque [**125**] (voir p. 29). Elle a été trouvée également par l'un de mes élèves, M. H. Marchand, dans les *S. ellipsoideus, intermedius, validus, vini Muntztii, Willianus, turbidans, Bayanus* et dans la Levure de Johannisberg I.

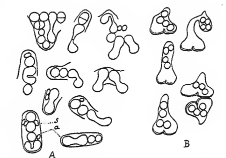


Fig. 12. — Transformation directe de l'ascospore en asque.

A, Germination des ascospores de *Schizosaccharomyces*, dans des conditions d'alimentation défectueuses. Les ascospores se gonflent, ne subissent qu'un très petit nombre de cloisonnements, et les cellules qui en résultent se fusionnent pour sporuler de nouveau. Souvent même, les ascospores une fois gonflées se fusionnent immédiatement sans subir de cloisonnement et cette fusion peut s'accomplir avant la rupture de la paroi de l'asque *(a)*. *s*, Ascospores ne s'étant pas encore gonflées. — B, Germination des ascospores de *Saccharomycodes Ludwigii*, dans des conditions défectueuses : les ascospores, après s'être fusionnées, se sont directement transformées en asques.

5° *Raccourcissement du développement : transformation directe de l'ascospore en asque* [**10**, **27**, **125**]. — Mes recherches m'ont permis de constater pour la première fois une sorte de raccourcissement du développement des Levures, qui se produit dans certaines conditions anormales. Lorsqu'on fait germer les ascospores de *S. Ludwigii* sur carotte, milieu défavorable au bourgeonnement, certaines ascospores tardives ne germent que lorsque les autres ont déjà formé de nombreuses générations de cellules végétatives. Ces ascospores germent alors dans des conditions d'alimentation défectueuses et peuvent se transformer directement en asques aussitôt fusionnés. Les asques ainsi formés offrent donc l'apparence des asques d'un *Schizosaccharomyces* ou d'un *Zygosaccharomyces*, et sont constitués par deux renflements unis par un col étroit.

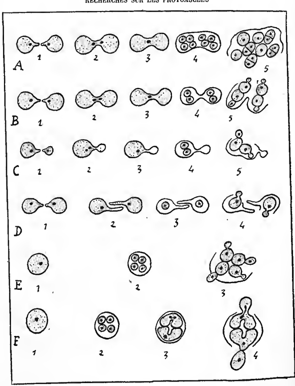


Fig. 13. — Schéma représentant le développement et la sexualité dans les principaux types de la famille des Saccharomycétacées, d'après l'ensemble de mes recherches.

A, *Schizosaccharomyces octosporus* : 1 à 3, copulation isogamique ; 4, zygospore transformée en asque ; 5, germination des ascospores. — B, *Zygosaccharomyces Barkeri* : 1 à 3, copulation isogamique ; 4, zygospore transformée en asque ; 5, germination des ascospores. — C, *Zygosaccharomyces Chevalieri* : 1 à 3, copulation hétérogamique ; 4, asque ; 5, germination des ascospores. — D, Levure ayant perdu sa sexualité, mais dont les cellules sporogènes conservant encore des traces d'attraction sexuelle ; 1 et 2, cellules essayant de s'unir sans y parvenir ; 3, sporulation de ces cellules ; 4, germination des ascospores. — E, *Saccharomyces cerevisiæ* : 1, cellule sporogène ; 2, asque ; 3, germination des ascospores. — F, *Saccharomycodes Ludwigii* : 1, cellule sporogène ; 2, asque ; 3, copulation des ascospores ; 4, germination.

D'autres fois, la cellule résultant de la fusion des deux ascospores commence à germer : elle produit un petit tube germinatif dont le développement s'arrête et dans lequel naissent des ascospores (fig. 12, B). J'ai retrouvé les mêmes anomalies dans la Levure de Johannisberg II et dans *Willia Saturnus*.

En faisant germer des ascospores de *Sch. octosporus* sur carotte, j'ai constaté que celles-ci se gonflent, ne subissent qu'un très petit nombre de cloisonnements et que les cellules qui en résultent se conjuguent immédiatement et se transforment en asques. Il arrive souvent que des ascospores encore enveloppées par la paroi de l'asque peuvent, après s'être gonflées et sans s'être cloisonnées, se fusionner directement pour former un asque. Il en résulte ainsi que les ascospores se fusionnent au début de leur germination comme dans le *S. Ludwigii;* mais, au lieu de bourgeonner après cette fusion, ici elles se transforment directement en asques (fig. 12, A).

A l'époque où je publiais ces résultats chez le *S. Ludwigii* [**10**] et indépendamment de moi, Hansen observait les mêmes phénomènes dans la Levure de Johannisberg II en plaçant sur bloc de plâtre des ascospores imbibées préalablement pendant quelques heures dans un liquide nutritif. Depuis j'ai eu l'occasion de retrouver [**125**] ce phénomène en cultivant sur carotte une Levure de Pulque (voir p. 30).

6° *Idées d'ensemble sur la sexualité des Levures, d'après mes recherches* [**63**, **89**]. — Tout l'ensemble de mes recherches sur la sexualité des Levures montre d'une manière très frappante que les Levures constituent un des exemples les mieux caractérisés d'un groupe où la sexualité est en voie de rétrogradation et où l'on peut suivre toutes les phases progressives de la disparition de ce phénomène. Si l'on jette un regard d'ensemble sur les Saccharomycétacées, on peut distinguer quatre types de Levures marquant les quatre étapes de l'évolution régressive de la sexualité (fig. 13) :

1° Les unes qui conservent la copulation ancestrale isogamique (A et B) ou hétérogamique (C) à l'origine de l'asque *(Schizosaccharomyces, Zygosaccharomyces, Debaryomyces) :*

2° D'autres (D), qui ont perdu cette copulation, tout en conservant des vestiges d'attraction sexuelle *(Schwanniomyces* et *Torulaspora Rosei);*

3° D'autres (F) qui ont perdu la copulation ancestrale et l'ont remplacée par une copulation entre les ascospores *(S. Ludwigii*, etc.);

4° D'autres (E) enfin, qui n'ont plus aucune manifestation sexuelle ; ce sont les plus nombreuses.

C. — ORIGINE DES LEVURES

[5, 6, 7, 35, 39. 48, 52]

On sait que la question de l'origine et de la position systématique des Levures était depuis Pasteur l'objet des plus vives controverses. Tandis que certains auteurs, tels que Hansen, admettaient que les Levures constituaient un groupe autonome de Champignons voisins des Exoascées, pour d'autres, les Levures n'étaient que des formes du développement de Champignons plus élevés dont la forme parfaite restait inconnue (Brefeld). L'existence d'une copulation précédant la formation des asques dans certaines Levures, jointe aux phénomènes cytologiques de la sporulation, m'avait amené à identifier le sac sporifère des Levures à l'asque des Ascomycètes. Elle apportait donc la démonstration que les Levures constituent un groupe autonome d'Ascomycètes.

Ces faits m'ont donc permis dès mes premières recherches (1901) [**4, 5, 6, 7**] d'affirmer que le problème de l'origine des Levures avait reçu une solution définitive. Cependant peu de temps après, MM. Viala et Pacottet croyaient avoir obtenu la transformation en Levures, capables de sporuler, de deux Sphæriacées, le *Glæosporium nervisequum* et le *Glæosporium ampelophagum*, qui possèdent, d'autre part, des perithèces.

Après avoir montré [**35, 39**] par une série d'arguments tirés de mes recherches sur le développement des Levures qu'il est impossible théoriquement d'admettre les résultats de ces auteurs, j'ai repris l'étude du développement du *Glæosporium nervisequum* [**48, 52**]. Je n'ai jamais obtenu dans mes cultures de ce Champignon autre chose qu'un mycélium fournissant des conidies et des pycnides.

Pour essayer d'obtenir la transformation du *Glæosporium nervisequum* en Levures, j'ai cultivé le Champignon sur les milieux sucrés les plus variés et surtout sur ceux qu'avaient employés MM. Viala et Pacottet. A aucun momant et en aucune circonstance, je n'ai obtenu, ni dans les milieux sucrés solides, ni dans les milieux sucrés liquides, la moindre trace de forme de Levures.

Mes résultats aboutissent donc à la conclusion que le *Glæosporium nervisequum* est incapable de se transformer en Levures, dans quelques conditions que l'on le mette. L'autonomie des Levures s'est trouvée d'ailleurs par la suite définitivement résolue par mes recherches ultérieures sur les Endomycétacées.

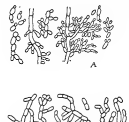
D. — ENDOMYCÉTACÉES

[51, 53, 54, 60, 67, 100]

Jusqu'au moment où j'ai abordé ces recherches, la position des Levures dans la classification des Champignons était restée très incertaine, par suite du manque de connaissances sur la phylogénie de ce groupe de Champignons. Rees et de Bary avaient été conduits à homologuer le sac sporifère des Levures à l'asque des Ascomycètes et à rapprocher les Levures des Exoascées. Cette opinion fut adoptée ensuite par Hansen et reçut un fort appui dans mes recherches sur la cytologie des Levures. Cependant, on doit convenir que, s'il est naturel de rapprocher les Levures et les Exoascées, il existe des différences notables entre ces deux groupes d'Ascomycètes. Les Exoascées, en effet, présentent dans les cellules destinées à se transformer en asques deux noyaux, et ce n'est qu'après la fusion de ces deux noyaux que ces cellules se développent en asques. Chez les Levures, j'avais démontré que ce phénomène fait défaut, quand l'asque ne dérive pas d'une copulation. Il semblait que l'on pouvait trouver des formes plus rapprochées des Levures dans la famille des Endomycétacées. Malheureusement, cette famille était à peine connue. Cependant, M[lle] Stoppell venait de découvrir l'*Eremascus fertilis* où elle avait décrit la formation des asques par une copulation isogamique. D'autre part, Lindner avait isolé, à la même époque, l'*Endomyces fibuliger*, et Schiönning, le *Saccharomycopsis capsularis*. J'ai donc abordé ces recherches avec le double but d'entreprendre une étude systématique de ce groupe d'Ascomycètes inférieurs encore à peine connu, et en même temps d'éclaircir le problème de la phylogénie des Levures.

Développement et sexualité. — On ne connaît jusqu'ici que deux genres d'*Eremascus*, l'*Eremascus albus* (Eidam) et l'*Eremascus fertilis* (Stoppell). La cytologie du premier n'a pas été faite, mais on sait par les travaux d'Eidam que les asques dérivent d'une copulation isogamique. Mes recherches sur l'*Eremascus fertilis* m'ont permis de confirmer et de compléter les observations de M[lle] Stoppell. Le Champignon se présente sous forme d'un mycélium cloisonné et ramifié dont les articles, d'abord plurinucléés dans les extrémités de filaments, deviennent bien vite mononucléés. Le mycélium ne donne jamais d'autres formes de reproduction que des asques. Ceux-ci dérivent d'une copulation isogamique qui s'effectue généralement entre deux cellules contiguës d'un filament, rarement entre les cellules de deux cellules appartenant à des filaments différents. Les deux cellules s'unissent au moyen de diverticules jouant le rôle de gamètes, qui s'anastomosent, formant ainsi une sorte de pont qui relie les deux cellules (fig. 15, A, 1 et 2). La cloison qui sépare les deux cellules au milieu du canal de copulation ne tarde pas à se résorber, une partie du cytoplasme s'introduit dans ce canal, puis se concentre dans ce dernier qui forme un renflement sphérique, lequel deviendra la zygospore. A ce moment, les deux cellules divisent leur noyau : l'un des

noyaux-fils issus de cette dernière reste dans la cellule, l'autre s'introduit dans la zygospore (fig. 15, A, 3 et 4). Là les deux noyaux (fig. 15, A, 3 et 4) sexuels se fusionnent, puis cette fusion opérée, la zygospore se sépare par une cloison transversale des deux branches qui lui ont donné naissance (fig. 15, A, 5). A partir de ce stade, la zygospore grossit et se transforme en un asque octosporé tout à fait semblable à celui des Levures (fig. 15, A, 7). J'ai constaté de nombreux cas de parthénogénèse : tantôt une cellule du mycélium donne un diverticule isolé, qui se développe directement en asque, tantôt les deux diverticules formés par des cellules contiguës se transforment chacun en asque sans s'unir. Enfin, il arrive même que les asques se développent directement aux dépens d'une cellule intercalaire du mycélium.



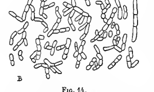


Fig. 14.
A, Levures et mycélium en voie de former des Levures, dans *Endomyces fibuliger*. — B, Oïdies d'*Endomyces Magnusii*.

Mes recherches établissent que, par la copulation qui précède la formation des asques, l'*Eremascus* ressemble beaucoup aux Levures ; il en diffère par le fait que ses cellules, au lieu d'être dissociées, restent réunies en filaments et constituent un mycélium.

L'*Endomyces fibuliger* (Lindner) est caractérisé par un mycélium cloisonné et ramifié, dont les articles donnent naissance par une sorte de bourgeonnement latéral ou terminal à des conidies rondes qui ne sont pas sans rappeler les Levures, mais qui sont incapables de se développer dans le milieu où elles sont nées. Le mycélium possède en outre le pouvoir dans certaines conditions de former également par bourgeonnement de véritables Levures qui, une fois détachées, continuent à se multiplier (fig. 14, A). Les asques se développent dans des cellules issues du bourgeonnement des articles du mycélium ou aux dépens de ces articles eux-mêmes. Lindner avait constaté dans le mycélium de fréquentes anastomoses entre les articles, mais il n'avait pas donné d'interprétation à ce phénomène.

Mes recherches ont complété celles de Lindner par une étude cytologique du Champignon et ont mis en lumière la signification des anastomoses. Leurs résultats ont montré que le mycélium renferme des cellules toujours uninucléées et se rapportent surtout à l'étude de la formation des asques. Ceux-ci naissent parfois isolément par simple bourgeonnement des articles ; mais, dans la majorité des cas, ils se forment après des essais de copulation aux dépens d'une anastomose qui relie les deux cellules voisines et par le procédé suivant : deux articles du mycélium émettent chacun un petit diverticule. Les deux diverticules s'anastomosent, mais la cloison qui les sépare ne se résorbe généralement pas, et, en tout cas, il ne s'effectue aucun mélange entre le

contenu des deux cellules anastomosées. Généralement l'un des diverticules arrête son développement, l'autre s'allonge, se recourbe sur le premier et donne naissance en se renflant à une grosse cellule. Le noyau de l'article correspondant se divise alors

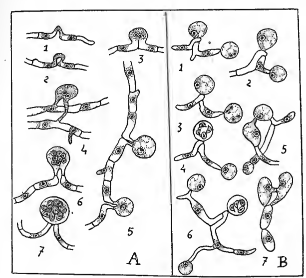


Fig. 15.

A, Copulation dans *Eremascus fertilis* : 1 et 2, Début de la copulation; 3 et 4, Rapprochement des noyaux ; 5, Œuf dans lequel la fusion nucléaire est opérée ; 6 et 7, Transformation de la zygospore en asque. — B, Formation des asques dans *Endomyces fibuliger* : 1 à 6, Asques formés aux dépens d'une anastomose, sans copulation ; 5 et 6, Asques essayant de s'anastomoser. On voit qu'ici les asques dérivent de cellules, qui ont cherché à s'unir sans y parvenir. Ces essais d'anastomoses montrent que l'*Endomyces fibuliger* a perdu sa sexualité primitive qui devait être semblable à celle de l'*Eremascus*.

et envoie l'un des noyaux-fils issus de cette division dans la grosse cellule qui se transforme bientôt en asque tétrasporé dont les ascospores en forme de chapeau à bord saillant sont semblables à celles des Levures du genre *Willia* (fig. 15, B, 1 à 6). Parfois, cependant, les deux diverticules formés côte à côte se développent chacun en asque sans s'anastomoser. Il peut arriver que, avant de sporuler, les deux asques ainsi formés s'anastomosent sans résorber leur cloison séparatrice (fig. 15, B, 5 et 7). Enfin,

deux cellules intercalaires du mycélium peuvent s'anastomoser sans résorber leur membrane et évoluer chacune en asque.

Mes recherches démontrent donc que les anastomoses signalées par Lindner sont toujours en relation avec la formation des asques.

On peut ainsi comprendre, d'après mes recherches, que, bien que toute sexualité ait disparu, il existe encore un rudiment d'attraction sexuelle tout à fait comparable au phénomène que j'ai mis en évidence dans certaines Levures *(Schwanniomyces*, etc.). Quand on compare ces anastomoses avec la reproduction sexuelle de l'*Eremascus fertilis*, on est frappé de la ressemblance qui existe entre le mode de formation des asques dans ces deux Champignons, et l'on est obligé d'admettre que les anastomoses de l'*Endomyces fibuliger* sont les vestiges d'une copulation semblable à celle qui se produit dans l'*Eremascus fertilis* (fig. 15, A et B).

Le *Saccharomycopsis capsularis* décrit par Schiönning offre un mycélium typique donnant par bourgeonnement de nombreuses Levures. Les asques renferment 4 ascospores et se forment dans des cellules issues du bourgeonnement latéral des articles du mycélium ou dans des cellules intercalaires de ce mycélium, sans aucune anastomose. D'après mes recherches, le mycélium est toujours formé de cellules à un seul noyau et les asques ont perdu ici toute trace de sexualité. Mes recherches m'ont amené à rapprocher ce Champignon de l'*Endomyces fibuliger*, dont il ne diffère que par l'absence de conidies et la disparition de tout vestige de sexualité à l'origine de l'asque. En rapprochant ce Champignon de l'*Endomyces fibuliger*, je suis donc arrivé à le considérer comme une forme très voisine de ce dernier et à le séparer des Levures sous le nom d'*Endomyces capsularis*.

D'autres *Endomyces*, tels que l'*E. decipiens* et l'*E. Magnusii*, se présentent sous forme d'un mycélium qui ne donne jamais de Levures, mais se tronçonne en cellules rectangulaires que l'on désigne sous le nom d'oïdies (fig. 14, B); une fois séparées, ces oïdies peuvent cotinnuer à s'accroître par cloisonnement transversal. Mes recherches sur l'*E. Magnusii*, de même que mes observations antérieures sur l'*Oidium lactis* qui produit aussi des oïdies, me conduisent à admettre qu'il y a lieu d'assimiler ces oïdies aux levures des *Schizosaccharomyces*. Dans l'*E. decipiens*, les asques naissent dans des cellules issues du bourgeonnement du mycélium et ne sont précédées d'aucune sexualité. Au contraire, dans l'*E. Magnusii*, les asques dériveraient, selon Ludwig, d'une copulation; mais ce phénomène, n'ayant été l'objet d'aucune observation cytologique et n'ayant pas été revu depuis Ludwig, avait besoin de confirmation. Dangeard qui a étudié ces deux Champignons, a montré que l'*E. decipiens* possède des articles toujours uninucléés; par contre, dans l'*E. Magnusii*, les articles sont parfois uninucléés, mais plus souvent plurinucléés. La formation des asques dans ce Champignon ne se produit que difficilement dans des conditions encore mal déterminées, et Dangeard n'a pu réussir à l'obtenir. Plus heureux què Dangeard, j'ai pu assister à la formation de nombreux asques dans des cultures sur carotte, ce qui m'a permis de réaliser une étude très complète de la sexualité.

La copulation est hétérogamique et s'effectue entre un gamète mâle et un gamète

femelle, nés chacun à l'extrémité d'un rameau du mycélium (fig. 16). L'anthéridie peut naître aux dépens de la cellule située au-dessous de l'oogone ou appartenir à un autre filament. Elle offre l'aspect d'un filament très mince et plus ou moins enroulé en spirale, à l'extrémité duquel se délimite une petite cellule, qui représente le gamète mâle. L'oogone est un rameau renflé, parfois légèrement recourbé en crosse, dont la partie supérieure devient le gamète femelle. Celui-ci ne se délimite que tardivement, peu avant la copu-

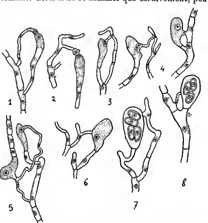


Fig. 16. — Copulation hétérogamique dans *Endomyces Magnusii.*
1 et 2, Anastomose de l'anthéridie et de l'oogone ; le gamète mâle est délimité, mais le gamète femelle ne s'est pas encore séparé par une cloison du rameau qui lui donne naissance. — 3 et 4, Stades où les deux noyaux vont se fusionner. — 5 et 6, Stades succédant à la fusion nucléaire. — 7 et 8, Asques achevés.

lation. Les articles du mycélium et les oïdies peuvent renfermer parfois un seul noyau, mais sont presque toujours plurinucléés, comme l'a montré Dangeard, mais le gamète mâle et le gamète femelle ne possèdent qu'un seul noyau. L'anthéridie va à la rencontre de l'oogone et s'anastomose à lui. La cloison mitoyenne qui sépare le gamète mâle du gamète femelle se résorbe et les deux cellules se fusionnent protoplasme à protoplasme et noyau à noyau et bientôt ne font plus qu'une seule cellule. L'œuf ainsi formé grossit et se transforme en asque tétrasporé.

Les détails de la structure de ces Champignons sont, d'après mes recherches, les mêmes que dans les Levures : noyaux de formes semblables, se divisant dans le mycélium par amitose, et vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques. Les phénomènes cytologiques de la sporulation s'opèrent comme dans les Levures, et les divisions nucléaires de l'asque paraissent être des mitoses.

E. — PHYLOGÉNIE DES LEVURES

[55, 57, 60, 77, 78, 79]

Au point de vue taxinomique, les recherches que je viens d'analyser démontrent qu'il y a lieu de rapprocher les Saccharomycétacées des Endomycétacées qui doivent être considérées comme deux familles extrêmement voisines des Protoascées. La con-

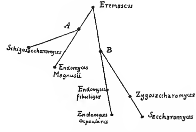


Fig. 17. — Schéma représentant la filiation des Levures.

naissance des Endomycétacées qui résulte de nos recherches éclaire d'un jour nouveau la question de la phylogénie des Levures. En effet, il semble permis de voir dans le genre *Eremascus* une forme ancestrale souche (fig. 17). De celle-ci proviendrait une forme encore hypothétique voisine de l'*Endomyces fibuliger*, mais en différant par l'existence de la copulation caractéristique de l'*Eremascus*. Cette copulation, qui est réduite à des essais infructueux chez l'*E. fibuliger*, a complètement disparu chez l'*E. capsularis*. De cette forme hypothétique (*Endomyces* B du schéma), les Levures dériveraient par régression à la fois de la sexualité qui tendrait à disparaître et de la forme mycélienne qui céderait la place aux formes Levures.

En somme, ce Champignon hypothétique, dérivé de l'*Eremascus*, serait la souche de deux branches, l'une avec l'*E. fibuliger* et l'*E. capsularis*, l'autre avec le genre *Zygosaccharomyces* et les *Saccharomyces*. Le genre *Saccharomyces* représenterait une forme parthénogénétique dérivée du *Zygosaccharomyces* comme semble l'indiquer l'existence de formes intermédiaires où les asques, bien que se formant toujours sans copulation, conservent cependant des vestiges d'attractions sexuelles.

Reste à expliquer maintenant l'origine des *Schizosaccharomyces*.

L'étude que j'ai faite de l'*E. Magnusii* semble apporter également quelques renseignements à ce sujet. L'*E. Magnusii* se rapproche, dans l'ensemble de son développe-

ment, de l'*E. fibuliger*; mais il s'en distingue nettement par le fait que, au lieu de produire des formes Levures, il donne naissance, par dissociation des articles de son mycélium, à des oïdies qui sont comparables aux cellules des *Schizosaccharomyces*. Bien qu'hétérogamique, sa copulation rappelle celle de *Sch. octosporus*. Dès lors, on peut considérer les *Schizosaccharomyces* comme dérivés d'une forme analogue à l'*E. Magnusii (Endomyces* A du schéma), mais moins évoluée, de laquelle se seraient détachés d'une part l'*E. Magnusii* et l'*E. decipiens*, et d'autre part les *Schizosaccharomyces*.

En résumé, il semble légitime de considérer les Levures comme dérivées d'un genre très voisin de l'*Eremascus*. De cette souche se seraient détachés deux rameaux : l'un, qui aurait donné naissance à l'*E. Magnusii* et au *Schizosaccharomyces*; l'autre, qui aurait fourni l'*E. fibuliger*, les *Zygosaccharomyces* et les *Saccharomyces*, ainsi que les autres représentants des Levures.

La question de la phylogénie des Levures pourrait donc être considérée comme résolue à la suite de mes recherches [1]. Il me semble donc permis de penser que ces travaux ont apporté un progrès important dans la connaissance de ces Champignons. Nous sommes loin du temps où l'on discutait avec Pasteur sur l'origine des Levures.

Depuis la publication de mes recherches, la découverte de nouveaux types de Champignons intermédiaires entre les Levures et les *Endomyces* est venue apporter une confirmation à mon opinion. C'est ainsi que Saito a découvert deux nouvelles

[1] Mes conceptions sur la phylogénie des Levures sont devenues rapidement classiques : c'est ainsi que le professeur Lindner, de Berlin, s'exprime comme suit, à propos de notre travail sur les Endomycétacées :

« Guilliermond a confirmé l'affinité de l'*Endomyces fibuliger* avec les ferments bourgeonnants et fut amené par cette découverte à l'étude détaillée des *Endomyces*. Cette étude menait à la belle découverte des relations qui existent entre un autre groupe des *Endomyces* et celui des *Schizosaccharomyces*, de telle sorte que dès lors le problème tant cherché de la filiation des Levures était résolu. » (Lindner, *Rapport au Congrès international des Brasseries*, Bruxelles, 1910.)

Voici, d'autre part, ce que dit M. Pavillard :

« Les découvertes récentes de Guilliermond, brièvement résumées ci-dessus, nous donnent l'impression d'un ensemble naturel, d'un groupe harmonique, et non d'un chaos de formes hétérogènes accidentellement rapprochées par les hasards de convergence.

« Sans vouloir suivre Guilliermond dans le menu détail de ses spéculations phylogénétiques, il paraît hors de doute que nous possédons aujourd'hui les fondements essentiels d'une phylogénie systématique des *Saccharomyces*.

« Avec Guilliermond, nous considérons *Eremascus fertilis* comme un type très archaïque et très primitif d'Ascomycètes, voisin de la forme souche qui aurait donné naissance aux *Endomyces* et aux formes voisines telles que *Podocapsa* et *Oleina*.

« Un premier rameau issu de la souche ancestrale aurait subi une évolution spéciale, caractérisée au point de vue végétatif par l'adaptation au bourgeonnement (formes Levures), et au point de vue reproducteur, par la disparition progressive de la sexualité. A cette série appartiennent d'une part *Endomyces fibuliger* et *Endomyces capsularis*, d'autre part les *Zygosaccharomyces* et les *Saccharomyces* proprement dits.

« Un deuxième rameau, détaché non loin du premier, aurait subi une évolution parallèle, caractérisée avant tout par l'adaptation progressive de l'appareil végétatif à une désarticulation plus ou moins complète en oïdies. Cette deuxième série moins homogène, moins nombreuse, mais aussi nette, comprendrait, entre autres, *Endomyces Magnusii* et tous les *Schizosaccharomyces*. » (Pavillard, Etat actuel de la Protistologie végétale, *Progressus rei botanicæ*, 1910, p. 520.)

espèces d'*Endomyces* : l'*E. Linderii*, dans lequel notre élève, M. Mangenot, a montré que les asques conservent comme dans l'*E. fibuliger* des vestiges de sexualité, et l'*E. Hordei*, espèce très voisine où toute trace de sexualité a disparu. Klöcker a d'autre part décrit l'*E. javanensis*, forme dans laquelle le mycélium se réduit de plus en plus aux dépens des Levures qui prédominent : les asques se forment sans copulation, indifféremment aux dépens des cellules du mycélium ou des Levures. Enfin, j'ai moi-même décrit deux nouvelles formes semblables (Levure de Pulque 2) et *Debaryomyces Klöckeri* [**125**, **145**, **166**], qui sont incontestablement des types de transition entre les Endomycétacées et les Saccharomycétacées (voir p. 29 et 30).

F. — MONOGRAPHIE DE NOUVELLES ESPÈCES DE LEVURES

J'ai eu l'occasion au cours de mes recherches d'isoler et de décrire un certain nombre de nouvelles espèces de Levures. La plupart de ces espèces offrent par leur sexualité ou les particularités de leur développement des caractères très intéressants au point de vue phylogénétique.

Cryptococcus Guilliermondi (Beauverie et Lesieur) [76].

Cette espèce a été isolée par le Dr Lesieur des crachats d'une malade atteinte de cancer secondaire du poumon. Je l'ai décrite, puis elle a reçu ensuite le nom de *Cryptococcus Guilliermondi* (Beauverie et Lesieur).

Levures de la mission Chevalier (Guilliermond) [110].

J'ai décrit quatre espèces nouvelles de Levures rapportées d'Afrique Occidentale par la mission Chevalier et dont le professeur Mangin nous a fait l'honneur de nous confier l'étude.

Trois de ces espèces : *Saccharomyces Chevalieri*, *Mangini* et *Lindneri* (Guilliermond), sont voisines du *S. ellipsoideus*. Elles offrent toutes, au moment de la germination, une copulation des ascospores, semblable à celle que j'ai fait connaître dans diverses Levures (*S. Ludwigii*, etc.) (voir p. 15).

Une quatrième espèce, le *Zygosaccharomyces Chevalieri* (Guilliermond) se rapproche du genre *Pichia*, mais présente au moment de la sporulation une copulation hétérogamique. Nous rappelons que c'est dans cette espèce que j'ai fait connaître pour la première fois la copulation hétérogamique dans les Levures (fig. 7).

La dernière, *Mycoderma Chevalieri* (Guilliermond), présente les caractères d'un Mycoderme : elle donne des formations mycéliennes assez développées.

Toutes ces Levures paraissent adaptées aux températures élevées. Leur température maxima pour le bourgeonnement est située entre 40 et 47 degrés, alors que, dans les Levures ordinaires, elle est placée entre 38 et 39 degrés.

Zygosaccharomyces Nadsoni (Guilliermond) [114, 139].

Cette Levure isolée par nous d'un sirop d'écorce d'oranges amères présente des cellules variant du type *Torula* au type *Pastorianus*.

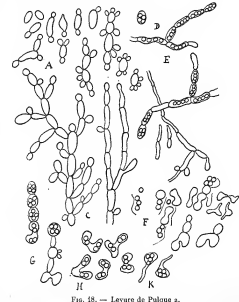


Fig. 18. — Levure de Pulque 2.

A, Levures. — C, Mycélium. — D, Asque formé dans une Levure. — E, Asques formés dans le mycélium. — F, Copulation et germination des ascospores. — G, Ascospores nées aux dépens des cellules issues de la germination des ascospores. — H, Asques formés dans des ascospores copulées. — K, Asques formés dans des ascospores n'ayant pas réussi à se conjuguer.

Elle ne produit pas de voile sur moût de bière. Ses asques dérivent d'une copulation hétérogamique et renferment 1 à 2, rarement 3 ascospores.

Levures de Pulque (Guilliermond) [125].

Chargé d'étudier les Levures de la fermentation du Pulque (boisson alcoolique du Mexique), j'ai pu isoler deux espèces nouvelles.

L'une, Levure de Pulque 1, se rapporte au genre *Pichia*.

La seconde, Levure de Pulque 2, est une espèce extrêmement curieuse. Elle végète d'abord à l'état de Levures (fig. 18, A), et ensuite forme un mycélium typique donnant naissance par bourgeonnement à des Levures (fig 18, C). Les asques se forment en très grande abondance sur carotte et gélose de Gorodkowa; ils naissent indifféremment aux dépens de Levures (fig. 18, D) ou dans les articles du mycélium (fig. 18, E) et renferment toujours 4 ascospores. Celles-ci sont mises en liberté au moment de la germination qui est presque toujours précédée d'une copulation (fig. 18, F). Lorsque les ascospores germent sur carotte, et surtout sur gélose de Gorodkowa, beaucoup d'entre elles, celles qui germent les dernières, au moment où les conditions d'alimentation deviennent défectueuses, se transforment aussitôt en asques après s'être conjuguées (fig. 18, H); d'autres fois, l'œuf issu de leur copulation donne naissance seulement à deux ou trois cellules qui évoluent en asques (fig. 18, G). On trouve aussi des asques nés dans des ascospores qui ont essayé au moyen d'un diverticule à s'unir à d'autres sans y parvenir (fig. 18, K). Cette espèce ressemble beaucoup à l'*Endomyces capsularis* et doit être considérée comme une forme de transition entre les Saccharomycétacées et les Endomycétacées.

Zygosaccharomyces Pastori (GUILLIERMOND) [141, 167].

Cette espèce, que j'ai isolée du suintement muqueux d'un Marronnier des environs de Lyon, se présente d'abord uniquement sous forme de grosses cellules arrondies ou ovoïdes, et ensuite offre un mélange de grosses cellules rondes et de petites cellules cylindriques. Cette Levure, dont nous avons décrit antérieurement la copulation hétérogamique (voir p. 13 et fig. 9), est une espèce dans laquelle la sexualité et la fonction sporogène sont en voie de s'éteindre. Elle présente par là un grand intérêt. Les asques renferment de 1 à 4 petites ascospores hémisphériques, à bords saillants, semblables aux ascospores du genre *Willia*. Cependant, par ses caractères culturaux, cette Levure ne présente rien de commun avec le genre *Willia*, d'où l'on peut conclure que la forme spéciale des ascospores de *Willia* n'est pas caractéristique de ce genre.

Debaryomyces Klöckeri (GUILLIERMOND et G. PÉJU) [145, 166].

Isolée d'une tache blanche de la gorge d'un malade, atteint d'angine bénigne, par le Dr Péju, cette Levure ne paraît pas pathogène, car son bourgeonnement cesse à partir de 36-37 degrés. Elle se développe d'abord sous forme de cellules Levures très polymorphes, souvent apiculées (fig. 19, A et B), puis donne au bout d'un certain temps des formes mycéliennes assez développées. Ces formes, rares dans les cultures à températures inférieures à 20 degrés, deviennent presque exclusives au voisinage de 35 degrés (fig. 19, D, C et E).

Les asques se forment indifféremment aux dépens de Levures ou dans les cellules du mycélium. Ils sont précédés d'une copulation hétérogamique (fig. 19, F). L'asque renferme une seule ascospore à paroi verruqueuse. Cette Levure, qui présente par sa copulation et la forme de ses ascospores les caractères du genre *Debaryomyces*, offre d'autre part par son mycélium bien caractérisé des formes de transition entre les Saccha-

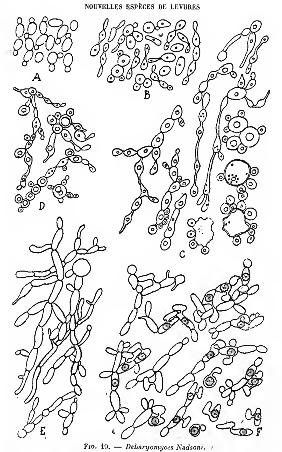


Fig. 19. — *Debaryomyces Nadsoni.*

A, Levures provenant d'une très jeune culture sur moût de bière. — B, Levures d'une culture plus âgée. — C, Formes mycéliennes dans une vieille culture sur moût de bière gélosé. — D, Formations mycéliennes d'un voile sur moût de bière. — E, Mycélium d'une culture sur moût de bière, à 35°. — F, Divers stades de la copulation hétérogamique et de la formation des asques.

romycétacées et les Endomycétacées. Elle se rapproche un peu de l'*Endomyces javanensis* (Klöcker). Elle est donc très intéressante au point de vue phylogénétique.

Debaryomyces Nadsoni (Guilliermond et Péju) [**176**].

Espèce isolée par le Dr Péju d'un sycosis de la barbe. On y observe une copulation hétérogamique et les caractères du genre *Debaryomyces*.

Levures des saucissons (Cesari et Guilliermond) [**162**].

Au cours du séchage des saucissons crus, on voit apparaître, vers le cinquième jour, à la surface de l'enveloppe, un semis de petits grains blanchâtres qui constitue ce que les praticiens désignent sous le nom de « fleur de saucisson ».

Les recherches de M. Cesari ont montré que ces grains représentent des colonies mixtes composées de Levures et Staphylocoques. M. Cesari a rencontré également des Levures dans le hachis de viande salée qui forme la pâte du saucisson et dans la saumure qui sert à la salaison des viandes, ainsi que sur les pièces de salaison sèche et les lards salés. M. Cesari, qui a isolé ces Levures, leur a attribué un rôle dans le phénomène de maturation des saucissons. M. Cesari m'a associé à lui pour la détermination de ces Levures.

Il résulte de mes études, faites en collaboration avec M. Cesari, que toutes les Levures isolées dans ces conditions, et qui sont au nombre de treize, présentent les caractères du genre *Debaryomyces*.

Leurs cellules sont en général, sauf quelques exceptions, rondes et ressemblent à des *Torula*. Elles offrent toutes une copulation hétérogamique précédant la sporulation. Celle-ci s'effectue le plus souvent entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement; le contenu de la petite cellule passe dans la grosse qui forme un asque à une seule ascospore, très rarement deux, à paroi verruqueuse (fig. 8). Dans certaines espèces, on constate des formes de transition entre l'isogamie et l'hétérogamie.

Ces Levures ne se développent généralement qu'à des températures inférieures à 35 degrés. Les unes forment sur moût de bière, dès le début, un voile sec, plissé, et un anneau; les autres ne produisent qu'un voile très ténu; les autres enfin ne donnent qu'un anneau tardif. Nos recherches établissent donc que le genre *Debaryomyces* renferme à la fois des espèces végétant dans les liquides sous forme de voile, et des espèces ne se développant qu'à l'état de dépôt, ce qui montre que la classification de Hansen, qui se sert de ce caractère pour diviser les Levures en deux groupes, est arbitraire.

Aucune de ces espèces ne fait fermenter les différents sucres.

Cette étude, jointe aux précédentes, montre la grande abondance des espèces du genre *Debaryomyces*, découvert en 1910, par Klöcker. L'un de mes élèves, M. Grigoraki, a eu l'occasion d'isoler également une autre espèce du même genre, le *Debaryomyces Matruchoti*, trouvé dans les selles d'un malade atteint de diarrhée.

Mes recherches sur les Levures ont été récompensées par l'Académie des Sciences (Prix Desmazières, 1904).

II. — RECHERCHES SUR LES ASCOMYCÈTES SUPÉRIEURS

Ces recherches ont eu comme point de départ l'étude des corpuscules métachromatiques. Les observations que j'avais faites de ces corps dans les Levures et l'importance qu'ils paraissaient y avoir m'avaient donné l'idée de rechercher leur présence dans les Ascomycètes supérieurs et d'étudier leur évolution dans l'épiplasme. En outre, ces travaux m'ont fourni l'occasion d'apporter une importante contribution à l'étude des mitoses de l'asque.

1° *Etude des corpuscules métachromatiques et de l'épiplasme* [**13**, **14**, **15**, **16**, **19**]. — L'épiplasme des Ascomycètes n'était guère connu que par les recherches purement chimiques de Errera, qui n'ont eu comme objet que la mise en évidence du glycogène. Il était donc intéressant d'entreprendre une étude cytologique de l'épiplasme. Mes recherches ont démontré que l'épiplasme de la plupart des Ascomycètes *(Ascobolus marginatus*, *Guilliermondia saccaboloides*[1], *Peziza coccinea*, *Pustularia vesiculosa*, *Aleuria cerea abietina et amplississima*, *Acetabula vulgaris*, *Peziza tuberosa*, *Catinus* et *venosa*, *Exoascus deformans*, *Taphrina aurea*, *Bulgaria inquinans*, *Helvella crispa*, *elastica* et *sulcata*, *Ascophanus aurora)* renferme une quantité considérable de corpuscules métachromatiques qui présentent les mêmes caractères histochimiques que ceux que j'ai mis en évidence dans les Levures. Ces corpuscules apparaissent déjà dans les stades les plus jeunes du développement, dans de petites vacuoles qui occupent les deux pôles de l'asque (fig. 20, I, A). Ils augmentent considérablement de nombre (fig. 20, B et C) pendant le développement de l'asque. Lorsque les ascospores sont délimitées, l'épiplasme apparaît chargé de corpuscules métachromatiques (fig. 20, D), de glycogène et souvent aussi de globules graisseux. Les corpuscules métachromatiques forment alors comme une poussière de fines granulations réparties dans toutes les petites vacuoles de l'épiplasme qui offre une structure alvéolaire. Pendant la croissance des ascospores, ces corpuscules s'accolent à la paroi de celles-ci, puis diminuent peu à peu de nombre pour disparaître complètement, lorsque les ascospores sont parvenues à leur maturité (fig. 20, E). Le glycogène suit la même évolution. Les corpuscules métachromatiques se comportent donc exactement comme dans l'asque des Levures : ils

[1] Cette étude m'a donné l'occasion de trouver sur du crottin de cheval un nouvel Ascomycète de la famille des Myriangiacées, pour laquelle M. Boudier a créé le genre *Guilliermondia saccaboloides* (Boudier, Sur un nouveau genre et une nouvelle espèce de Myriangiacées, le *Guilliermondia saccaboloides*, *Bull. Soc. Mycol.*, 1903).

servent avec le glycogène d'aliments pour les ascospores et peuvent donc être considérés comme des produits de réserve. Les ascospores parvenues à maturation renferment des corpuscules métachromatiques et du glycogène.

Quelques espèces cependant ne paraissent pas renfermer de corpuscules métachro-

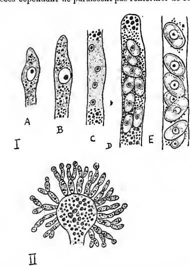


Fig. 20. — I. Evolution des corpuscules métachromatiques dans l'asque d'*Aleuria cerea*.

On voit que ces corps augmentent pendant le développement de l'asque, s'accumulent dans l'épiplasme et sont absorbés par les ascospores pendant leur croissance (D et E).

II. Conidiophore de *Sterigmatocystis nigra*.

On y voit de nombreux corpuscules métachromatiques.

matiques dans leur épiplasme *(Otidea leporina* et *onotica*, *Hypocopra fumicola*, *Geoglossum viride*, *Ciboria echinophila)*; par contre elles sont extrêmement riches en globules graisseux. Ces globules graisseux sont absorbés par les ascospores pendant leur croissance et les ascospores parvenues à maturité renferment chacune un gros globule graisseux. Ce sont surtout les espèces dépourvues de corpuscules métachromatiques qui sont les plus riches en graisse. Néanmoins les deux productions peuvent coexister abondamment; c'est le cas des Helvelles *(Helvella sulcata*, *crispa* et *elastica)*, dans lesquelles on observe à la fois du glycogène et une quantité considérable de corpuscules métachro-

matiques et de globules graisseux. Le glycogène se rencontre dans toutes les espèces, sauf dans *Peziza Catinus* et *Elaphomyces granulatus*. Dans quelques espèces (*Peziza Catinus*, *Acetabula leucomelas*, *Galactinia succosa*), j'ai observé autour du noyau des granulations sidérophiles que j'ai désignées sous le nom de *grains basophiles* et dont le rôle n'a pas été bien précisé; ces granulations paraissent disparaître au début de la première mitose. En dehors de ces différents produits, on remarque dans *Pustularia vesiculosa*, *Peziza venosa* et dans les espèces du genre *Aleuria*, à la partie supérieure de chaque asque, un anneau d'amyloïde. C'est au niveau de cet anneau d'amyloïde que s'effectue l'ouver-

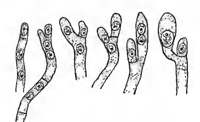


Fig. 21. — Formation de l'asque dans *Peziza Catinus*.

ture de l'opercule de l'asque, qui met en liberté les ascospores. Mes observations me couduisent donc à admettre que, contrairement à l'opinion admise, cet anneau d'amyloïde ne constitue pas une réserve, mais correspond à une dégénérescence de la paroi. Il persiste d'ailleurs après la sortie des ascospores.

Mes recherches [**14**] m'ont permis de constater en outre l'extrême abondance des corpuscules métachromatiques dans les conidiophores de *Penicillium glaucum*, *Aspergillus variabilis*, *Sterigmatocystis nigra*. Ces corpuscules métachromatiques se transmettent dans les conidies (fig. 20, II).

J'ai également [**12**] fait une étude cytologique en collaboration avec M. Beauverie sur le *Botrytis cinerea*, qui nous a permis de retrouver la structure observée dans d'autres Champignons et d'obtenir de nouvelles preuves en faveur du rôle de matière de réserve des corpuscules métachromatiques, en particulier dans l'accumulation de ces corpuscules dans les sclérotes.

Tous ces faits tendent donc à démontrer le rôle de réserve des corpuscules métachromatiques.

2° *Formation des asques* [**16, 19, 20, 21, 25**]. — Mon étude sur l'épiplasme m'a donné l'occasion d'apporter une contribution à l'étude du mode de formation des asques.

Dans la majorité des espèces que j'ai observées (*Aleuria cerea*, *olivea* et *amplis*-

sima, *Ascobolus marginatus*, *Guilliermondia saccaboloides*, *Helvella sulcata*, *elastica* et *crispa*, *Ciboria echinophila*, *Otidea onotica*, *Bulgaria inquinans*), les asques se forment aux dépens de crochets, selon le processus classique décrit par Dangeard. Au contraire, dans *Acetabula leucomelas*, l'asque dérive de la cellule terminale d'un filament composé d'une file de cellules binucléées, selon le procédé indiqué par Maire et vérifié par moi dans *Galactinia succosa*. Enfin, j'ai décrit pour la première fois un mode nouveau de formation de l'asque dans *Peziza Catinus* [**21**, **25**]. Ici, les asques naissent aux dépens de filaments rectilignes dont la cellule terminale est uninucléée et la subterminale binucléée ; cette dernière donne naissance à un rameau latéral dans lequel pénètrent les deux noyaux et qui se développe en asque après fusion nucléaire (fig. 21). Ce processus a été retrouvé depuis par Harper dans *Phyllactinia Corylea*.

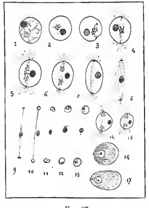


Fig. 22.
Mitoses de l'asque dans *Pustularia vesiculosa*.

1, Noyau à l'état de repos, avant la première mitose — 2, Début de la prophase de la première mitose : apparition des chromosomes — 3, Formation du fuseau achromatique. — 4, Plaque équatoriale. — 5, Fin de la métaphase. — 6, Anaphase — 7, Début de la télophase. — 8 et 9, Télophase la membrane nucléaire s'est résorbée. — 10 à 13, Formation de deux noyaux-fils. Le fuseau achromatique se résorbe et le nucléole du noyau-père subsiste longtemps dans le cytoplasme, entre les deux noyaux-fils — 14, Anaphase de la seconde mitose. — 15, Anaphase de la troisième mitose. — 16 et 17, Délimitation de l'ascospore par recourbement de l'aster autour du centrosome.

3° *Mitoses de l'asque, évolution nucléaire et formation des ascospores* [**16**, **19**, **20**, **21**, **24**, **25**, **58**, **72**]. — Les mitoses de l'asque observées pour la première fois par Gjurasin n'étaient bien connues, au moment où j'ai commencé ces recherches, que par quelques observations encore incomplètes de Harper. Au cours de mes recherches, elles ont été l'objet de travaux simultanés de Dangeard et Maire, puis de Harper, de Fraser, Fraser et Welsford, Fraser et Brooks, et Carruthers.

Mes recherches ont porté sur plusieurs espèces : *Otidea onotica*, *Pustularia vesiculosa*, *Galactinia succosa*, *Peziza Catinus* et *Humaria rutilans*.

Dans toutes ces espèces, les mitoses suivent les processus généraux décrits par Harper : elles se passent tout entières à l'intérieur de la membrane nucléaire (fig. 22 et 23). Elles ont donc un caractère primitif et correspondent à ce que certains auteurs désignent sous le nom de mésomitose. On constate au début de première mitose un stade synapsis, bien caractérisé, pendant lequel le peloton chromatique se condense sur un côté du noyau, puis à ce stade succède une phase où les chromosomes apparaissent groupés au voisinage du nucléole, pendant que le réseau de linine se résorbe (fig. 22, 2). Un centrosome, peut-être d'origine nucléaire, apparaît entouré d'un aster

(fig. 23, 6). Celui-ci se dédouble ainsi que son aster (fig. 23, 7) et les deux centrosomes-fils viennent se placer aux deux pôles du noyau avec chacun un demi-aster ; cela fait, les fibres des deux demi-asters viennent s'appliquer contre les chromosomes et constituent, en se soudant, un fuseau achromatique lougeant le noyau. Au milieu de ce fuseau, les chromosomes se rangent en plaque équatoriale (fig. 22, 4). En même temps, un nouvel aster se constitue aux dépens du cytoplasme autour des deux centrosomes. A la métaphase (fig. 22, 5), les chromosomes se dédoublent, puis les chromosomes résultant de cette division se répartissent entre les deux pôles (fig. 22, 6). A la télophase, ils se réunissent en une masse confuse (fig. 22, 7). C'est à ce moment seulement que la membrane nucléaire se résorbe (fig. 22, 8) : le fuseau achromatique s'allonge en s'étirant, puis les deux noyaux-fils se constituent pendant que le fuseau achromatique se résorbe (fig. 22, 9 à 13). Le nucléole persiste pendant toute la durée du phénomène et se retrouve après la formation des noyaux-fils dans le cytoplasme où il ne se résorbe que lentement.

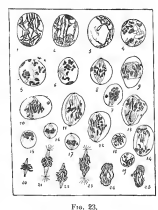


Fig. 23.
Mitoses de l'asque dans *Humaria rutilans.*

1, Noyau dans les stades précédant la première mitose. — 2, Fissuration du peloton chromatique. — 3, Synapsis. — 4 et 5, Apparition des chromosomes. — 6, Apparition du centrosome entouré de son aster. — 7, Division du centrosome et dédoublement de l'aster. — 8, Plaque équatoriale. — 9 à 13, Métaphase — 14, Anaphase — 15, Début de la prophase de la seconde mitose. — 16 et 17, Plaque équatoriale de la seconde mitose. — 18 et 19, Spirème de la troisième mitose. — 20 et 21, Plaque équatoriale. — 23, Métaphase. — 25, Anaphase.

La seconde et la troisième mitose s'effectuent selon les mêmes processus, avec cette différence qu'elles n'offrent pas de stades synapsis.

Les deux premières mitoses s'opèrent selon la direction de l'axe longitudinal de l'asque, et les deux autres perpendiculairement à cet axe. Le nombre des chromosomes est le même au cours des trois mitoses successives de l'asque. Ce nombre est de 8 dans *Aleuria cerea*, *Otidea onotica*, *Pustularia vesiculosa* et *Galactinia succosa* ; il est de 16 dans *Peziza Catinus* et *Humaria rutilans*.

Dans la plupart des espèces, les chromosomes apparaissent comme de très petits grains, et il n'est pas possible d'observer leur mode de partage. Au contraire, dans *Peziza Catinus*, et surtout dans *Humaria rutilans*, les chromosomes sont beaucoup plus gros et permettent de préciser les détails de leur division. Les mitoses d'*Humaria rutilans*, que j'ai été le premier à décrire, constituent, par la forte dimension de leurs chromosomes, le plus bel exemple de mitose qui ait été signalé jusqu'ici dans les Champignons, et se rapprochent tout à fait à ce point de vue des mitoses classiques des Phanérogames (fig. 23).

Dans ces deux dernières espèces, la prophase débute par un stade où le peloton chromatique apparaît fissuré (fig. 23, 2). La fissuration cesse ensuite d'être visible et le noyau entre au stade synapsis (fig. 23, 3) qui présente une série de boucles paraissant correspondre aux chromosomes. Vient ensuite un spirème qui aboutit à un stade où les 16 chromosomes apparaissent disséminés dans le nucléoplasme sous forme de boucles bien caractérisées, paraissant représenter des chromosomes bivalents (fig. 23, 4 et 5). Un peu avant la plaque équatoriale (fig. 23, 9 à 13), ces boucles se contractent tout en conservant leur aspect, puis, à la métaphase (fig. 23, 14), les deux branches qui constituent les boucles semblent se séparer simplement, donnant 32 chromosomes monovalents qui se répartissent entre les deux pôles. Là, les chromosomes prennent l'aspect de V comme si une division longitudinale incomplète se produisait à ce moment. A la seconde mitose, on constate de nouveau 16 chromosomes en forme de V dontles deux branches se séparent à la métaphase (fig. 23, 15 à 17).

Mes recherches établissent donc avec la plus grande précision que le nombre des chromosomes varie dans les Ascomycètes d'une espèce à l'autre, contrairement à l'opinion qui admettait que le nombre des chromosomes était de 4 dans tous les Ascomycètes. Ce résultat a été confirmé ensuite par Harper, puis par Fraser et ses collaborateurs. En outre, mes recherches démontrent que les mitoses de l'asque offrent les caractères de divisions réductrices. La première est hétérotypique, la seconde homotypique et la troisième typique. Les processus de dédoublement des chromosomes paraissent conformes au schéma de Farmer et Moore. Il n'y a pas de protochromosomes à la prophase de la première mitose, contrairement à l'opinion de certains auteurs, et les chromosomes apparaissent directement.

Un des résultats les plus importants de mes recherches [**58**, **72**] est la démonstration que, contrairement à l'opinion de Fraser et Weslford, Fraser et Brooks, et Carruthers, le nombre des chromosomes reste constant pendant les trois mitoses successives. Les auteurs anglais admettaient, au contraire, l'existence, au cours de ces divisions, de deux réductions chromatiques : l'une s'effectuant à la première mitose et la seconde s'opérant, selon les espèces, pendant la deuxième ou troisième mitose. Ce fait bien établi est donc peu favorable à la théorie de Harper qui admet l'existence, dans le cycle évolutif des Ascomycètes, de deux fusions nucléaires, et, au contraire, s'accorde avec les théories qui admettent une seule fusion nucléaire. (Théories de Dangeard ou de Claussen.)

Mes recherches m'ont permis en même temps de vérifier pour la première fois les processus décrits par Harper relativement à la délimitation des ascospores par les asters [**19**, **20**, **21**]. Dans toutes les espèces observées, les noyaux résultant de la troisième mitose restent unis par un petit bec à leur centrosome respectif entouré de l'aster. C'est par un recourbement de l'aster en forme de parapluie que se délimitent les ascospores (fig. 22, 16 et 17). Ce processus, que j'ai vérifié pour la première fois, a été ensuite retrouvé par un grand nombre d'auteurs.

III. — RECHERCHES SUR LA CYTOLOGIE DES CYANOPHYCÉES ET DES BACTÉRIES

La question de la structure des Cyanophycées et des Bactéries présentait une grande importance au point de vue de la Biologie générale. En effet, ces deux groupes étaient, au moment de mes recherches, les seuls organismes chez lesquels on n'avait pu encore différencier un noyau d'une manière évidente. Il était donc du plus haut intérêt de savoir si ces organismes renferment un noyau ou si, comme quelques-uns le prétendaient alors, ils seraient dépourvus de tout élément nucléaire et feraient en cela exception à la règle partout ailleurs constatée. C'est ce problème que j'ai essayé de résoudre dans cette série de recherches. J'ajoute que la solution de cette question, dans les Bactéries, pourrait apporter de précieux renseignements sur la connaissance de ce groupe, peut-être hétérogène, dont la position systématique et la phylogénie restent absolument inconnues.

A. — STRUCTURE ET NOYAU DES CYANOPHYCÉES

[28, 29, 30, 32]

La question de la structure des Cyanophycées était très discutée depuis fort longtemps. Bütschli avait observé, dans les Cyanophycées, un *corps central*[1] formé d'un cytoplasme alvéolaire, se distinguant du reste de la cellule par sa chromaticité plus accentuée, ainsi que par la présence dans sa trame de nombreuses granulations très chromophiles, désignées sous le nom de *grains rouges*, en raison de leur métachromasie (coloration rouge avec la plupart des teintures bleues). Ce corps central occupe la plus grande partie de la cellule, le reste étant réduit à une mince couche corticale de cytoplasme peu chromophile, à structure plus finement alvéolaire. Bütschli assimile le corps central à un noyau de structure primitive dont les *grains rouges* représenteraient les grains de chromatine. Pour Massart et Zacharias, le corps central ne représente, au contraire, qu'une partie de la cellule où s'accumulent des produits de réserve (grains rouges). Au moment où j'ai commencé mes recherches, cette opinion venait d'être précisée par A. Fischer pour qui le corps central correspondait au cytoplasme proprement dit et la zone corticale à un chromatophore qui entourerait la cellule ; les

grains rouges de Bütschli seraient simplement des produits de réserve accumulés dans le cytoplasme.

L'étude de diverses espèces appartenant à des groupes différents : Oscillariées, Nostocées, Rivulariées, Scytonémées, m'a permis de constater partout la même structure. La cellule des Cyanophycées possède une mince zone de cytoplasme alvéolaire qui, dans les cellules âgées, peut parfois former de véritables vacuoles. Ce

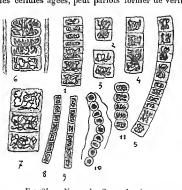


Fig. 24. — Noyau des Cyanophycées.

1 à 5, *Calothrix pulvinata*. — 6 et 7, *Scytonema circinnatum*. — 8 et 9, *Microcoleus ethnoplastes*. — 10, *Nostoc verrucosum*. — 11, *Nostoc* species. — Partout, on constate la présence d'un corps central, correspondant au noyau et constitue par un réseau chromatique situé dans un nucléoplasme hyalin. — Dans les figures 1, 2, 4, 5, 6 et 10, on observe des stades de division du corps central.

cytoplasme, qui renferme les pigments à l'état de dissolution, ne possède pas les caractères d'un chromatophore. Il montre souvent sur les côtés latéraux de la cellule ou tout près des cloisons transversales de petits grains sidérophiles *(Cyanophycinkörper* de certains auteurs), qui sont probablement des produits de réserve.

La majeure partie de la cellule est occupée par le corps central de Bütschli : celui-ci présente tous les caractères d'un noyau de structure primitive (fig. 24). Il est constitué par un nucléoplasme incolore, non limité du cytoplasme par une membrane: dans ce nucléoplasme se trouve un réseau chromatique tout à fait semblable au réseau chromatique d'un noyau. Ce réseau montre une substance fondamentale peu chromophile, sur laquelle sont insérés de nombreux grains très colorables, présentant les caractères de la chromatine et qui n'avaient pas été observés jusqu'alors. On constate, en outre, dans le nucléoplasme, des corpuscules métachromatiques qui correspondent aux grains rouges de Bütschli, et parfois aussi de grosses sphères sidérophiles qui paraissent être de nature protéique. Ces dernières, ainsi que les corpuscules métachromatiques, semblent être des produits de réserve.

Dans les cellules âgées, le corps central peut se contracter au milieu de la cellule, tandis que la zone corticale s'accroît beaucoup en se vacuolisant (Nostocées et Rivulariées). Au contraire, dans les Scytonémées, le réseau chromatique se fragmente et se dissémine dans toute la cellule pendant sa vacuolisation, de telle sorte que le corps central et la zone corticale arrivent à se confondre.

Les cellules des Cyanophycées paraissent être presque constamment en voie de division, et chaque cellule possède à son milieu une ébauche de cloison transversale, en forme de cercle : celle-ci apparaît déjà dans les deux moitiés des cellules en voie de division, avant la fermeture complète de la cloison transversale destinée à les séparer. Pendant la division cellulaire, le réseau chromatique subit une certaine orientation, les filaments se disposent en séries parallèles, puis le réseau s'étrangle en son milieu pendant le cloisonnement, de telle sorte que chacune des cellules-filles reçoit une moitié du corps central de la cellule-mère. Le réseau chromatique prend ensuite dans les cellules-filles un aspect qui rappelle un peu un spirème. Cette division du corps central est donc très simple, mais elle rappelle à certains égards les mitoses (fig. 24, 1, 2, 4, 5, 6 et 10).

Il résulte donc de mes recherches que le corps central de Bütschli représente un noyau à l'état primitif. Il ne diffère d'un véritable noyau que par sa dimension exagérée par rapport à la cellule, ainsi que par son absence de membrane et de nucléole. Il se réduit par conséquent à un réseau chromatique dans un nucléoplasme. Ce noyau présente, en outre, la particularité d'accumuler dans son nucléoplasme une grande abondance de produits de réserve, entre autres des corpuscules métachromatiques, pris à tort par Bütschli pour des grains de chromatine. Le réseau présente tous les caractères histochimiques de la chromatine et se divise par une sorte de procédé intermédiaire entre l'amitose et la mitose. Sa nature ne nous paraît donc pas contestable.

Cette structure des Cyanophycées est à rapprocher de celle qui a été signalée dans certains Protozoaires. C'est ainsi que, dans quelques espèces, Schaudinn et Gonder ont observé des noyaux réduits à l'état d'un réseau chromatique ou même de filaments chromatiques disséminés dans le cytoplasme, qui cependant, à certains stades, s'organisent en un noyau typique.

Mes recherches ont été confirmées depuis par Wager, Philips, Gardner, Moreau, Baumgärtel, et il semble que la grande majorité des Botanistes se soit ralliée à mes conclusions.

B. — CYTOLOGIE DES BACTÉRIES

[8, 26, 31, 34, 38, 40, 50, 61, 65]

1° *Structure générale.* — Aucun problème de cytologie n'a été aussi discuté que celui de la structure des Bactéries. Mais l'extrême petitesse de leurs cellules n'a pas permis jusqu'ici d'aboutir à une solution définitive. Les auteurs qui l'ont abordé et au

nombre desquels se rangent des Maîtres de la Cytologie sont arrivés aux interprétations les plus contradictoires.

Les uns nient l'existence du noyau ou de son équivalent (A. Fischer, Massart, Migula), beaucoup admettent la présence d'un noyau plus ou moins mélangé avec le

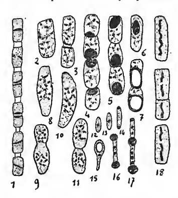


Fig. 25. — Structure des Bactéries.

1, *Bacillus mycoides*, au début du développement. On y observe la formation des cloisons transversales. — 2, *Id.*, après 8 heures : le cytoplasme a un aspect alvéolaire et renferme des granulations chromatiques. — 4 à 6, Formation de l'ébauche de la spore. — 7, Spore entourée d'une membrane qui fait obstacle à la pénétration des colorants. — 9 à 11, *Bacillus radicosus*, a bout de 8 heures. — 12 a 14, *Bacillus asterosporus*, coloré par une méthode ne différenciant que les corpuscules métachromatiques. On y voit les corpuscules métachromatiques au milieu ou aux pôles de la cellule. — 15, *Id.*, avec spore; un corpuscule métachromatique s'observe en dehors de la spore. — 16 et 17, *Bacillus alvei*, avec des corpuscules métachromatiques nombreux dont quelques-uns dépassent la largeur du bacille. — 18, Bacille de l'intestin l'*Echinocardium cordatum*, avec spirale chromatique.

cytoplasme (Bütschli, Schaudinn) ; certains enfin, comme Arthur Meyer et Vejdowsky, prétendent avoir mis en évidence un noyau typique.

Mon étude a porté sur un certain nombre de bacilles endosporés : *Bacillus megatherium*, *B. radicosus*, *B. mycoides*, *B. asterosporus* et *B. alvei*, et sur le *Spirillum volutans*, dont les dimensions permettent l'observation cytologique [**34**, **38**, **40**, **50**, **65**].

Examinées au début de leur développement, ces espèces présentent un aspect homogène et se colorent uniformément, sans différenciation, ce qui semble s'expliquer par la densité du cytoplasme ou par un état particulier de la membrane. A ce stade, les cellules sont en voie d'actives divisions, et permettent d'observer la formation de leur cloison transversale (fig. 25, 1). Celle-ci apparaît d'abord sous forme de deux petits grains sidérophiles, situés de chaque côté de la cellule, au milieu. Ces grains s'accroissent vers le centre de la cellule et se soudent, constituant une cloison trans-

versale qui, fixant d'abord énergiquement l'hématoxyline ferrique, ressemble un peu à un noyau, et a été décrite comme telle par certains auteurs.

Vers la huitième heure du développement, le cytoplasme se vacuolise, et les cellules montrent alors une belle structure alvéolaire. La trame renferme dans ses nœuds de petits grains fortement colorables, ceux-ci fixent la plupart des colorants nucléaires et n'ont pas les caractères des corpuscules métachromatiques (fig. 25, 2 et 3 et 8 à 11). Il est donc permis de les considérer comme de nature chromatique.

Lors de la sporulation, il se forme à l'un des pôles de la cellule une petite masse ovale, très colorable, qui ressemble beaucoup à un noyau. Celle-ci, d'abord très petite, grossit peu à peu et finalement se transforme en spore (fig. 25, 4 à 7). La spore ne semble pas dériver de la condensation des grains chromatiques ou tout au moins ne dérive que d'une partie seulement de ces grains. Parvenue à maturité, la spore possède une membrane qui fait obstacle à la pénétration du colorant (fig. 25, 7).

A aucun stade du développement, je n'ai observé la moindre trace d'un noyau. Les noyaux décrits par certains auteurs correspondent aux corpuscules métachromatiques ou aux figures de formation des cloisons transversales. L'hypothèse la plus vraisemblable est, à mon avis, de considérer les Bactéries, avec Schaudinn, comme renfermant de la chromatine plus ou moins mélangée au cytoplasme, différenciée parfois à l'état de grains, et se précipitant lors de la sporulation pour former la spore qui serait en majeure partie constituée de chromatine.

Je ne pense donc pas qu'il existe un noyau dans les Bactéries que j'ai étudiées, mais je me garderais de généraliser, car il est possible que, dans le groupe peut-être hétérogène des Bactéries, certaines espèces possèdent un noyau.

Depuis mes recherches, la question de la structure des Bactéries n'a pas beaucoup progressé. Mon hypothèse n'a jamais été infirmée. Tout au contraire, les plus récentes recherches de Swellengrebel, Dobell, Pénau, etc., n'ont fait que la confirmer.

Dans mes recherches, je n'ai pas trouvé de caractères qui puissent permettre de rapprocher les Bactéries des Cyanophycées, et les affinités entre ces deux groupes de Végétaux inférieurs me paraissent très douteuses.

Cependant, dans des recherches un peu plus récentes [**61**, **65**], j'ai pu observer dans quelques Bactéries (deux Bacilles et un Spirille) de l'intestin des *Echinocardium cordatum*, de Wimereux, des grains chromatiques orientés, selon l'axe de la cellule, en un filament spiralé, qui paraît constituer un noyau rudimentaire semblable à celui décrit dans certaines Bactéries par Swellengrebel et Dobell (fig. 2, 18). Ce filament spiralé pourrait être rapproché jusqu'à un certain point du corps central des Cyanophycées.

2° *Signification des corpuscules métachromatiques* [**8**, **26**, **31**, **50**]. — Les corpuscules métachromatiques sont bien connus dans les Bactéries depuis les travaux de Babès. Mais leur signification a été mal interprétée par les Bactériologistes et ne pouvait être éclaircie que par des études de Cytologie générale [**8**].

Après les avoir considérés d'abord comme des spores, puis comme des noyaux, les Bactériologistes tendaient, au moment où je commençais mes recherches, à les inter-

préter comme étant en relation avec la virulence des Bactéries. Leur présence aurait été un signe de la virulence et aurait pu être utilisée comme critérium du degré de virulence d'une Bactérie. On sait d'ailleurs que, pendant longtemps, on a admis que le bacille diphtérique se différencie du bacille pseudo-diphtérique par ses corpuscules métachromatiques (grains de Babès-Ernst) qui font défaut dans le second. Mais ce critérium ne paraît avoir qu'un caractère très relatif, car on peut faire apparaître des corpuscules métachromatiques dans le bacille pseudo-diphtérique en certaines conditions.

Dans une communication au Congrès de tuberculose (1906), Behring, énumérant les produits qu'il avait extraits du bacille de Koch, s'exprime ainsi au sujet de l'un d'eux:

« C'est une substance soluble seulement dans l'eau pure et qui possède une action fermentative et catalytique. De cette substance soluble dans l'eau dérivent les parties toxiques de la tuberculine de Koch. Cette substance a toutes les qualités chromophiles physiques et chimiques de la « volutine » décrite par notre botaniste de Marburg, Arthur Meyer. Je nomme cette substance T V. »

Comme on le voit, l'auteur paraît admettre que les corpuscules métachromatiques, auxquels Arthur Meyer a donné le nom de volutine, représentent la toxine elle-même.

M'appuyant [**8**, **26**, **31**] sur mes recherches relatives à l'évolution des corpuscules métachromatiques dans les Champignons, qui jettent un jour nouveau sur la signification de ces corps, j'ai combattu cette opinion. Dans les Champignons, où ils sont très abondants et montrent des caractères qui permettent de les identifier à ceux que l'on observe dans les Bactéries, les corpuscules métachromatiques paraissent jouer le rôle de produit de réserve. Ils s'accumulent dans l'épiplasme des asques et sont absorbés par les ascospores pendant leur croissance. Il est donc fort douteux qu'ils puissent avoir une relation quelconque avec les toxines.

Plus tard, j'ai repris [**40**, **50**] l'étude des corpuscules métachromatiques, au cours de mes recherches sur la cytologie des Bactéries. Ces recherches ont montré qu'en dehors des grains de chromatine que j'ai décrits on trouve, dans la plupart des Bactéries, des corpuscules métachromatiques, mais ceux-ci ne sont pas toujours présents à tous les stades du développement, et ne sont pas toujours aussi abondants dans toutes les espèces.

Dans quelques Bactéries *(Bacillus mycoides* et *radicosus)*, ils sont fort rares. Au contraire, les corpuscules métachromatiques sont très abondants dans le *Spirillum volutans*, ainsi que dans les *B. alvei* et *asterosporus*. Chez ces deux dernières espèces, ils apparaissent d'abord aux deux pôles de la cellule, ou au milieu (fig. 25, 12 à 14); plus tard, on en voit naître tout le long de la cellule. En grossissant, ces corpuscules peuvent dépasser la largeur du bacille et (fig. 25, 16, 17) lui donner un aspect moniliforme. C'est ce qui explique l'erreur de beaucoup de Bactériologistes qui ont décrit ces corps comme des spores. Dans le *Bacillus alvei* et le *B. asterosporus*, les corpuscules métachromatiques subsistent dans le cytoplasme après la formation de la spore, puis se résorbent ensuite, probablement absorbés par la spore pendant sa croissance (fig. 25, 15).

Mes recherches sur la structure des Cyanophycées et des Bactéries m'ont valu le prix Montagne (Académie des Sciences, 1909).

IV. — RECHERCHES SUR LES GRAINS D'ALEURONE

Arthur Meyer, dans son étude sur les corpuscules métachromatiques (grains de volutine), a recherché si ces corps, présents dans la plupart des Bactéries, des Algues et des Champignons, se retrouvent dans les Végétaux supérieurs. Il n'a pu constater nulle part la présence de volutine. Par contre, il mentionne sans insister que les globoïdes présentent quelques-unes des réactions de cette substance.

C'est dans le but de rechercher si ce rapprochement se trouve fondé, par un examen plus complet des caractères histochimiques des globoïdes, que j'ai entrepris cette série d'études qui m'a amené à observer l'origine et l'évolution des grains d'aleurone dans les Graminées (Orge, Blé, Maïs) [**33, 36, 37, 41, 42, 43, 46, 47, 49**]. Ces recherches ont été faites en partie avec la collaboration de M. Beauverie [**33, 46**].

1° *Origine et structure des grains d'aleurone* [**33, 36, 37, 41, 42, 43, 46, 47, 49**]. — Les grains d'aleurone [**49**] naissent très tardivement dans le développement de la graine des Graminées : ils apparaissent dans les périodes qui précèdent immédiatement sa maturation, sous forme de petites vacuoles renfermant des granulations protéiques et des globoïdes. Il est probable que, au moment de la maturation, la protéine se trouvant en dissolution dans ces vacuoles se précipite tout entière par suite de la déshydratation.

Dans la graine à l'état de vie ralentie, les grains d'aleurone se rencontrent non seulement dans l'assise protéique, où ils sont bien connus, mais encore dans toutes les cellules des divers organes de l'embryon [**43, 49**]. Leur dimension est essentiellement variable, selon la région considérée. Les grains d'aleurone des Graminées sont constitués simplement par une masse protéique renfermant dans son intérieur un très grand nombre de globoïdes de diverses dimensions, mais en général très petits.

Dans les premières heures de la germination, la protéine se dissout partiellement et les grains d'aleurone se transforment en vacuoles. A ce stade, les vacuoles dérivées des grains d'aleurone, grâce à leur protéine, fixent les colorants vitaux (rouge neutre, bleu de méthylène), qui donnent une coloration diffuse au suc vacuolaire et font apparaître dans l'intérieur des granulations protéiques vivement colorées. Celles-ci apparaissent d'abord animées de mouvements browniens, puis elles se fusionnent les unes aux autres sous l'influence du colorant et finissent par se rassembler sur un côté de la vacuole, en une sorte de croissant. Au cours de la germination, ces vacuoles se gonflent, se fusionnent les unes dans les autres, tandis que les granulations protéiques qu'elles

renferment se dissolvent peu à peu. Les globoïdes se gonflent, mais subsistent longtemps après la disparition des grains de protéine.

2° *Caractères histochimiques de la protéine et des globoïdes* [**46**, **47**, **49**]. — La protéine des grains d'aleurone est facile à fixer; une fois fixée, elle se colore par les teintures bleues ou violettes d'aniline qui lui donnent une coloration métachromatique, d'un bleu verdâtre pâle. Elle fixe d'une manière intense la safranine et l'hématoxyline ferrique et d'une façon diffuse l'hémalun.

Les globoïdes présentent un certain nombre de caractères des corpuscules métachromatiques. Les fixateurs qui les conservent le mieux sont ceux qui fixent le mieux les corpuscules métachromatiques (alcool et formol); par contre, les fixateurs renfermant de l'acide acétique, qui fixent les corpuscules métachromatiques, dissolvent les globoïdes. Les globoïdes se colorent comme les corpuscules métachromatiques par les colorants bleus et violets d'aniline, et surtout par le bleu Unna qui leur donne une belle coloration rougeâtre. Ils montrent alors le plus souvent une structure concentrique formée d'une série de zones plus colorées séparées par des zones moins colorées.

Les globoïdes se teignent également par le rouge de ruthenium qui colore électivement les corpuscules métachromatiques. Par contre, ils ne se teignent pas par l'hématéine et ne fixent pas les colorants vitaux, contrairement aux corpuscules métachromatiques. Enfin, ils présentent les réactions I, II et VII considérées par Arthur Meyer comme caractéristiques de la volutine.

On sait que les recherches de Posternak ont montré que les globoïdes sont constitués par un hexophosphate d'inosite, mais Pfeffer a reconnu qu'ils renferment également une matière azotée ou albuminoïde subsistant après traitement par une solution de potasse concentrée, qui dissout la partie organo-minérale du globoïde; d'autre part, Tschirch et Kritzler ont trouvé dans les globoïdes une globuline qui paraît être unie avec la chaux et la magnésie. En traitant des préparations par une solution de potasse concentrée, j'ai obtenu à la place des globoïdes un résidu qui montre les mêmes colorations que les globoïdes, et, de plus, se colore en jaune par l'iode. Il est donc possible d'admettre que c'est à cette partie probablement protéique du globoïde qu'est due la coloration de ce corps, et l'on pourrait peut-être rapprocher, dans une certaine mesure, cette substance de la métachromatine.

V.— RECHERCHES SUR LES CORPUSCULES MÉTACHROMATIQUES

[**45**, **64**]

1° *Importance et fréquence des corpuscules métachromatiques* [**64**]. — Les corpuscules métachromatiques, que j'ai été le premier à mettre en évidence et à caractériser dans les Levures (1901, 1902), n'ont cessé depuis d'être l'objet de mes préoccupations. Mes recherches sur les corpuscules métachromatiques des Levures, bientôt suivies de celles sur l'épiplasme des Ascomycètes (1903), ont établi que ces corps paraissent jouer le rôle de produits de réserve. J'ai enfin insisté sur la généralité et l'importance de ces corps qui se rencontrent non seulement dans les Champignons, mais dans la plupart des Algues et les Bactéries et fréquemment aussi chez les Protozoaires. Mes recherches ne m'ont cependant pas permis de constater leur présence dans les Phanérogames.

Bien qu'on attribue généralement, surtout en Allemagne, la connaissance des corpuscules métachromatiques à Arthur Meyer, il est incontestable cependant que l'important mémoire de cet auteur n'est venu qu'après mes recherches et n'a ajouté aux faits que j'avais apportés que quelques caractères microchimiques nouveaux et une hypothèse sur la constitution chimique des corpuscules métachromatiques, qui consiste à admettre que ces corps seraient constitués par une combinaison d'acide nucléique, hypothèse adoptée ensuite par Kohl, Reichnow et van Herwerden.

Les corpuscules métachromatiques ont été ensuite l'objet d'importantes études sur les Protozoaires les plus divers, dans lesquels ils paraissent très fréquents, et leur rôle de produit de réserve s'y est trouvé confirmé par la plupart des auteurs, entre autres par Reichnow.

J'ai rassemblé dans une Revue générale [**64**] toutes les connaissances acquises sur les corpuscules métachromatiques, en insistant sur ce fait que les auteurs ne s'entendent pas sur la désignation des corpuscules métachromatiques, ce qui jette beaucoup de confusion sur cette question. Je proteste contre l'emploi des termes de *grains de volutine* et de *volutine* créés par Arthur Meyer et adoptés par les Allemands. Le terme de *corpuscules métachromatiques*, proposé par Babès qui les a signalés pour la première fois dans les Bactéries et que j'ai conservé dans mes études bien antérieures à celles de Meyer, a la priorité et doit être préféré à celui de grains de volutine.

Je propose, par la même occasion, de remplacer le terme de volutine par celui de *métachromatine* pour désigner la substance de nature encore inconnue qui constitue

ce corps. J'ai eu la satisfaction de voir que j'avais été suivi dans cette proposition et que, depuis lors, le terme de métachromatine a été universellement adopté[1].

2° *Relation des granulations des Mastzellen (leucocytes à granulations basophiles) avec les corpuscules métachromatiques.* — Dans d'autres recherches en collaboration avec le Dr Mawas, j'ai montré que les granulations des Mastzellen ou leucocytes à granulations basophiles (Rat, Grenouille) présentent tout l'ensemble des caractères histochimiques des corpuscules métachromatiques et n'en diffèrent que par le seul fait qu'elles ne se colorent pas par l'hématéine ; cette différence n'est peut-être pas très importante, car Jolly a remarqué que les grains de certaines Mastzellen se colorent par l'hématéine. Il est donc permis d'admettre que ces granulations auxquelles Ehrlich attribue le rôle de produit de réserve, rôle que paraissent avoir aussi les corpuscules métachromatiques, sont chimiquement très voisines des corpuscules métachromatiques.

[1] Je crois intéressant de reproduire ici ce passage emprunté à Dobell : « Le premier qui ait observé ces grains dans les Bactéries paraît avoir été Babès. C'est lui qui leur a donné le nom de corpuscules métachromatiques. Il ne semble guère douteux que la majorité des grains qui ont été décrits dans les cellules bactériennes appartiennent réellement à cette classe de corps. Des observateurs différents ont donné des noms différents à ces grains, et cela a été en grande partie la cause de la confusion qui existe actuellement à leur sujet Il paraît certain que les corpuscules métachromatiques de Babès, les grains de Ernst, les grains rouges de Bütschli, une partie de grains de Warlich, les grains de Fischer, les sphérules de volutine de Grimme, les grains de volutine de A. Meyer, les grains toxigènes de Behring, les corps de Babès-Ernst et de beaucoup de bactériologistes, sont en réalité les mêmes, c'est-à-dire les corps que j'appellerai corpuscules métachromatiques. Ce nom convient à ces corps, et a été employé par Guilliermond dans ses importantes recherches sur leur nature, et j'espère avec lui qu'il trouvera une acceptation universelle et aidera à éclaircir la confusion qui existe encore sur ces formations. » (Clifford Dobell, Contributions to the Cytology of the Bacteria, 1910, *The Quarterly Journal of Microscopical Science*, p. 463.)

VI. — RECHERCHES
SUR LES CONSTITUANTS MORPHOLOGIQUES DU CYTOPLASME
MITOCHONDRIES

I. — LE CHONDRIOME. — EVOLUTION DES PLASTES

A. — Évolution des mitochondries dans les Végétaux chlorophylliens et origine des plastes.

Jusque dans ces dernières années, les techniques histologiques n'avaient pas permis d'aborder l'étude du cytoplasme. Les travaux récents de cytologie animale de Benda, Meves, Regaud, Fauré-Fremiet, etc., ont démontré à l'aide de méthodes nouvelles, dites *mitochondriales*, que le cytoplasme renferme des organites constitutifs que les procédés de fixation employés jusqu'ici ne permettaient pas de conserver. Ces organites qui correspondent aux anciens *bioblastes* d'Altmann, dont les travaux modernes démontrent la réalité, ont reçu les noms de *mitochondries*, *chondriosomes* ou *plastosomes*. Leur ensemble constitue le chondriome de la cellule, et toute cellule a son chondriome. Les mitochondries paraissent incapables de se former autrement que par division de mitochondries préexistantes. Elles ont des formes bactériennes : grains ou mitochondries granuleuses, bâtonnets et filaments ou chondriocontes. Ces formes peuvent passer de l'une à l'autre : le grain s'allonge en filament par croissance en longueur, et le filament peut se segmenter en grains. On attribue aux mitochondries une constitution lipo-protéique et un rôle élaborateur. Les mitochondries paraissent contribuer à la formation des grains de zymogène, des graisses, et servir de substratum aux pigments. Il est permis de supposer qu'elles ont également un rôle dans l'hérédité.

Les mitochondries, constatées déjà dans les cellules végétales par un petit nombre d'auteurs, venaient, au moment où j'ai abordé leur étude, de faire l'objet de recherches de Pensa (1910) et Lewitsky (1911). Ces auteurs tendaient à admettre que les plastes ou leucites des Phanérogames dérivent de la différenciation des mitochondries.

On sait que, si la persistance des plastes et leur évolution était parfaitement connue dans les Algues Chlorophycées, grâce aux travaux de Schmitz, il n'en était pas de même dans les Végétaux supérieurs.

Les travaux de Schimper et d'Arthur Meyer ont admis, en se fondant sur ce qui existe dans ces Algues, que les plastes se transmettent aussi, par division, de cellules en cellules à partir de l'œuf. Mais les conclusions de ces auteurs ont été fortement discutées, notamment par Belzung, et l'on a même contesté que l'amidon ne puisse se former que par l'intermédiaire des plastes. Les plastes sont, en effet, dépourvus



FIG. 26. — Sac embryonnaire de *Lilium candidum*, au début de sa différenciation. (Grossissement : 1.500. Méthode de Regaud.)

de chlorophylle dans les tissus embryonnaires des Végétaux supérieurs et, comme ils y sont très petits et que, jusqu'ici, faute de méthodes permettant de les fixer et de les colorer, on était réduit à l'observation vitale, le problème restait insoluble.

La question de l'origine des plastes dans les Phanérogames à partir des mitochondries avait donc une très grande importance et méritait la plus grande attention.

Mes recherches ont démontré, dès 1911 [**73, 74, 75**], la présence, dans les cellules embryonnaires d'un grand nombre de Phanérogames, d'un chondriome tout à fait semblable à celui de la cellule animale, et la transformation d'une partie des éléments de ce chondriome en plastes, au moment de la différenciation cellulaire. Elles ont fait ressortir, en outre, que les plastes sont parfaitement fixés et colorés par les méthodes mitochondriales, qui constituent un procédé précieux pour leur étude.

1° LE CHONDRIOME DANS LES ORGANES SEXUELS [**85, 90, 142, 143, 153**]. — Le chon-

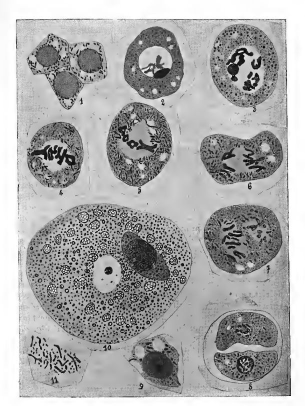


Fig. 27. — Evolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen de *Lilium candidum*.

1, Cellules-mères primordiales des grains de pollen. — 2, Cellule-mère définitive d'un grain de pollen, au stade synapsis : les amyloplastes apparaissent sous forme de grains légèrement plus gros que les autres mitochondries. — 3. *Id.*, au début de la prophase. — 4 et 5, *Id.*, à la métaphase. Les amyloplastes ont pris la forme de chondriocontes. — 6 et 7, *Id.*, à l'anaphase. — 8, Délimitation des grains de pollen. — 9, Jeune grain de pollen. — 10. Grain de pollen définitivement constitué: les amyloplastes se distinguent des autres mitochondries par leurs dimensions un peu plus élevées, beaucoup forment de l'amidon, et l'on observe tous les stades de formation des grains d'amidon composés. — 11, Portion de chondriome d'une cellule-mère pendant la mitose, à un très fort grossissement, on y voit les amyloplastes en forme de chondriocontes, et les mitochondries granuleuses. (Méthode de Regaud.)

driome se trouve dans toutes les cellules du nucelle des Liliacées (Tulipe et Lis) et dans le sac embryonnaire qui en dérive.

Dès le début de la différenciation du sac embryonnaire, le chondriome dans cette cellule affecte la forme de mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets, souvent en voie de division; ensuite un certain nombre de ces éléments s'allongent en chondriocontes typiques [**142, 143**] (fig. 26). Dans les stades ultérieurs *(Lilium candidum* et *croceum)*, on assiste à la formation, sur le trajet des chondriocontes, de renflements qui se séparent par rupture des parties effilées qui les réunissent, grossissent et prennent l'allure de gros corpuscules, de structure parfois concentrique et de signification inconnue [**143**]. Les autres éléments restent à leur état primitif. Dans les synergides, l'oosphère et les antipodes, on constate les mêmes phénomènes. Ce sont très probablement les altérations de ce chondriome qui ont été décrites par certains auteurs comme des formations ergastoplasmiques (Bouin, etc.).

Dans les cellules primordiales des grains de pollen de *Lilium candidum* [**153**], le chondriome apparaît constitué par des grains, des bâtonnets et des chondriocontes (fig. 27, 1). Dans les cellules mères, dès le stade synapsis, tout le chondriome devient granuleux, mais on observe des mitochondries légèrement plus grosses que les autres, qui représentent des plastes (fig. 27, 2 et 3). Dès le début de la première division des cellules mères des grains de pollen, les plastes prennent la forme de chondriocontes (fig. 27, 4 à 7), tandis que les autres mitochondries restent granuleuses. Les chondriocontes se segmentent en grains au cours de ces mitoses, et, les mitoses achevées, on distingue dans les grains de pollen des mitochondries granuleuses très petites et des plastes arrondis ou en courts bâtonnets, résultant de la segmentation des chondriocontes et seulement très légèrement plus gros que les mitochondries (fig. 27, 8 et 9). Lorsque le grain de pollen est arrivé à maturation, il renferme un très grand nombre de mitochondries granuleuses parmi lesquelles on distingue un assez grand nombre de grains un peu plus gros: ceux-ci représentent des amyloplastes et élaborent d'assez gros grains d'amidon composés par un processus que je décrirai plus loin (fig. 27, 10).

2° Différenciation des plastes dans les membres de la plante. — On retrouve dans toutes les cellules des méristèmes un chondriome constitué par des mitochondries granuleuses, des bâtonnets et des chondriocontes. L'évolution de ce chondriome pendant la différenciation cellulaire varie beaucoup selon le tissu considéré.

a) *Amyloplastes* [**75, 82, 83, 90, 109, 111, 112, 146**]. — Dans les tissus incolores (cellules des divers tissus de la racine et épidermes), le plus souvent une partie des éléments du chondriome se différencient des autres par des dimensions légèrement supérieures, tout en conservant leurs formes caractéristiques de mitochondries. Les éléments qui se différencient ainsi, et qui représentent des amyloplastes, sont presque toujours des chondriocontes et beaucoup plus rarement des grains et des bâtonnets. Au contraire, les éléments qui conservent leurs dimensions primitives sont le plus souvent des grains et des bâtonnets (parenchyme cortical des racines de Courge, Ricin,

Pois, etc.). Rarement, les amyloplastes sont plus différenciés et affectent la forme de gros bâtonnets ou de gros fuseaux, comme dans la racine de *Phajus grandifolius*

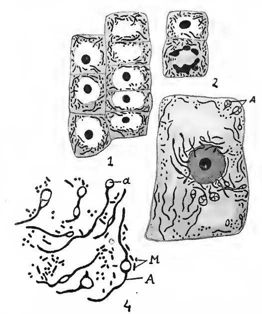


Fig. 28. — Évolution du chondriome dans la racine de Haricot.

1, Cellules du méristème avec chondriome constitué par des grains et des chondriocontes. — 2, Id., avec une cellule en voie de mitose (télophase). — 3, Cellule du parenchyme cortical. Les chondriocontes qui représentent les amyloplastes forment sur leur trajet de petits renflements dans lesquels apparaissent des grains d'amidon d'abord simples, puis composés (grossissement : 1.200). — 4, Chondriome d'une cellule semblable, à un grossissement de 3.000 : A, Amyloplastes ; a, Amidon, M, Mitochondries ne jouant pas de rôle dans la formation de l'amidon, à l'état de grains ou de bâtonnets. (Méthode de Regaud.)

où ils ont été décrits par Schimper. Dans d'autres cas, une partie des éléments du chondriome, surtout les chondriocontes, élaborent directement de l'amidon sans subir la moindre différenciation (racines de Haricot (fig. 28), d'*Elodea canadensis*, cellules du cylindre central de la plupart des racines, épidermes de la plupart des feuilles et des fleurs, comme celles d'Iris et de Tulipe).

L'amidon se forme selon le processus suivant que j'ai décrit pour la première fois : le chondrioconte forme à l'une de ses extrémités, ou au milieu, ou sur plusieurs points

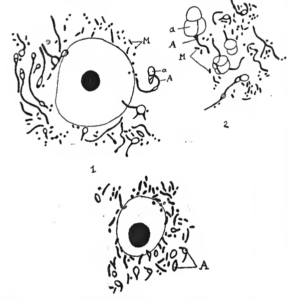


Fig. 29. — Chondriome de la racine de Ricin.

En bas : Noyau d'une cellule du méristème, entourée de son chondriome. Il est impossible de distinguer les mitochondries qui joueront un rôle dans la formation de l'amidon, de celles qui ne participeront pas à ce phénomène. Cependant déjà un certain nombre des éléments du chondriome (A) forment de petits grains d'amidon. — 1, Noyau entouré de son chondriome dans une cellule du parenchyme cortical. Les chondriocontes (A) représentent les amyloplastes et forment des grains d'amidon composé *(a)*; d'autres mitochondries à l'état de grains ou de bâtonnets ne participent pas à ce phénomène (M). — 2, Chondriome d'une cellule semblable, montrant tous les stades de la formation des grains d'amidon composés. (Grossissement : 2.000. Méthode de Regaud.)

de son trajet, de petits renflements. Chacun de ces renflements prend bientôt l'aspect d'une vésicule déterminée par la présence en son sein d'un petit grain d'amidon, non coloré par les méthodes mitochondriales, et entouré d'une écorce mitochondriale (fig. 28, 3, 4, et 29). Peu après, d'autres petits grains d'amidon naissent à côté du premier aux dépens de l'écorce mitochondriale, et l'on arrive ainsi à la formation d'un grain com-

posé qui reste toujours entouré d'une écorce mitochondriale, devenant de plus en plus mince à mesure que le grain grossit, et muni d'un appendice effilé, reste du chondrioconte générateur. Les grains d'amidon peuvent aussi, bien que plus rarement, naître aux dépens de grains ou de bâtonnets mitochondriaux non différenciés qui se transforment intégralement en vésicules. C'est le processus ordinaire dans le tubercule de Pomme de terre, où il n'existe que des mitochondries granuleuses.

En traitant [**75**, **83**, **90**] par le réactif iodo-ioduré des préparations fixées et colorées par la méthode de Regaud, j'ai pu obtenir la réaction caractéristique de l'amidon dans les vésicules, même les plus petites, sans détruire la coloration du chondrioconte[1].

La méthode de Champy-Kull permet aussi d'obtenir la coloration de l'amidon par le bleu de toluidine dans le chondrioconte coloré par la fuchsine acide, mais les résultats sont plus inconstants [**118**].

C'est seulement dans des cas très rares qu'on a pu réaliser en cytologie animale l'observation vitale du chondriome (Laguesse, Fauré-Fremiet, R. et H. Lewis, G. Levi). Il était donc du plus haut intérêt de chercher, chez les Végétaux, des exemples qui permissent de contrôler sur le vivant les résultats obtenus par les techniques mitochondriales. Aussi, je me suis efforcé de rechercher des Végétaux se prêtant aux observations vitales, et j'ai trouvé les conditions les meilleures chez l'*Iris germanica* [**112**, **146**] dont les cellules épidermiques des feuilles et des fleurs constituent certainement les objets les plus favorables que l'on connaisse pour l'observation vitale du cytoplasme. J'ai entrepris, dès 1913, des études vitales très détaillées des cellules des divers tissus de l'*Iris germanica* à tous les stades du développement, et j'ai réalisé ainsi les observations vitales les plus complètes qui aient été faites jusqu'à ce jour.

En détachant à l'aide d'un scalpel l'épiderme de l'anthère d'une très jeune fleur encore fermée, de quelques millimètres de long, en le montant dans une solution isotonique sucrée, puis en l'examinant à un très fort grossissement, il est facile d'observer avec la plus grande netteté le chondriome : celui-ci se distingue dans le cytoplasme d'apparence homogène, par une réfringence légèrement supérieure ; il est composé par des chondriocontes allongés et onduleux, parfois ramifiés, et par des bâtonnets et des mitochondries granuleuses. Les chondriocontes montrent sur leur

[1] Tous ces faits ont été confirmés par un grand nombre d'auteurs. Meves dit à ce sujet : « Guilliermond a montré, ce que j'ai confirmé ici, que les plastosomes peuvent élaborer directement de l'amidon. » (Meves, Hist. krit. Unters. über die Plastosomen der Pflanzenzellen, *Arch. f. mik. Anat.*, 1917, p. 299).

Plus récemment, un élève de M. Guignard, M. Mascré, s'exprime ainsi à la suite de ses recherches sur le chondriome des cellules nourricières des grains de pollen : « On observe de très nombreux chondriocontes, assez minces, légèrement flexueux ; quelques-uns sont légèrement renflés à leurs extrémités ; d'autres se forment à l'une de leurs extrémités ou sur leur trajet des renflements. Tous ces aspects, bien connus depuis les travaux de Guilliermond, correspondent à la formation des plastides. » (Mascré, *Rech. sur le dév. de l'anthère chez les Solanacées*, Thèse Doctorat ès sciences de la Faculté des Sciences de Paris, 1921, p. 27.)

Et plus loin le même auteur dit : « L'amidon est d'origine mitochondriale, et l'on retrouve tous les aspects aujourd'hui classiques décrits par Guilliermond. De petits renflements apparaissent sur le trajet ou à l'extrémité des chondriocontes dans lesquels se forme un petit grain d'amidon. » (*Ibid.*, p. 78.)

trajet de petits grains d'amidon très réfringents, simples ou composés, que l'on peut colorer par le réactif iodo-ioduré sans altérer le chondriome. On obtient ainsi la preuve directe de la formation de l'amidon au sein des chondriocontes.

On observe les mêmes particularités dans l'épiderme des feuilles (fig. 35) et des bractées très jeunes, ainsi que dans celui des pétales ou des sépales d'une très jeune fleur de cette espèce.

b) *Chloroplastes* [**74**, **81**, **84**, **90**, **138**, **144**, **179**]. — Les jeunes feuilles de la gemmule d'Orge m'ont permis de suivre facilement, à l'aide de la méthode de Regaud,

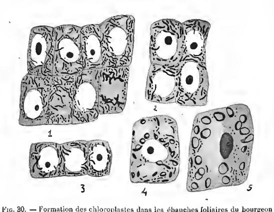


Fig. 30. — Formation des chloroplastes dans les ébauches foliaires du bourgeon d'*Elodea canadensis*.

1, Cellules d'une jeune ébauche foliaire, avec chondriome constitué par des grains, bâtonnets et chondriocontes ; à droite, une cellule est en voie de mitose (télophase). — 2 et 3, Cellules d'ébauches un peu plus développées : une partie des chondriocontes s'épaississent et forment sur leur trajet des renflements, qui ensuite se sépareront, par rupture des parties effilées qui les réunissent, pour former de petits chloroplastes. — 4 et 5, Cellules d'ébauches encore plus développées ; les chloroplastes sont formés et élaborent de gros grains d'amidon ; il subsiste, en dehors de ces éléments, des mitochondries en forme de grains, de bâtonnets et même de chondriocontes. (Grossissement : 1.125. Méthode de Regaud.)

la formation des chloroplastes aux dépens d'une partie des éléments du chondriome. On constate que, pendant la différenciation des cellules du méristème qui occupe la base de la feuille, il se forme sur le trajet des chondriocontes de petits renflements qui s'isolent par rupture des parties effilées qui les unissent, grossissent et prennent l'aspect de gros chloroplastes arrondis. J'ai observé le même phénomène dans beaucoup d'autres bourgeons (Ricin, Haricot, etc.), mais parmi eux celui d'*Elodea canadensis*, déjà

étudié par Lewitsky, présente un très grand intérêt, parce qu'il permet de contrôler sur le vivant ce que l'on observe sur les préparations traitées par les méthodes mitochondriales (fig. 30).

Le point végétatif de la tige et les plus jeunes ébanches foliaires sont dépourvus de chlorophylle, mais ne permettent pas d'observer leur chondriome sur le vivant : par contre, dans les ébauches foliaires un peu plus développées, il est facile de suivre tous les stades de la formation des chloroplastes aux dépens des chondriocontes : ceux-ci verdissent, puis se transforment peu à peu par le procédé ordinaire en gros chloroplastes, tandis que d'autres éléments du chondriome : grains, bâtonnets, et même chondriocontes typiques, subsistent sans se modifier à côté de ces chloroplastes.

c) *Chromoplastes* [**88, 90, 99, 112, 113, 121, 146**]. — Le meilleur procédé pour étudier la différenciation des chromoplastes consiste dans l'observation vitale, et la fleur d'*Iris germanica* [**99, 112, 146**] m'a été encore, à ce point de vue, d'une grande ressource. Dans les cellules des sépales, il existe, dans le voisinsge de l'onglet, une région où l'épiderme est jaune et renferme des chromoplastes chargés de xanthophylle. Il est facile de constater sur le vivant que ces chromoplastes se différencient à partir de chondriocontes : ceux-ci s'imprègnent de pigments, en même temps qu'ils élaborent de petits grains d'amidon, puis, après la résorption de l'amidon, grossissent beaucoup et prennent l'aspect de filaments, de fuseaux ou de bâtonnets, très gros, tandis qu'à côté d'eux subsistent de petites mitochondries incolores à l'état de bâtonnets, parfois de chondriocontes, mais surtout de grains.

Un autre exemple, qui peut être considéré avec l'*Iris germanica* comme un des plus beaux objets d'étude pour l'observation vitale du chondriome, est la fleur de Tulipe [**121, 146**]. Dans les variétés blanches, les cellules épidermiques des pétales des fleurs les plus jeunes renferment un chondriome à l'état de grains et de bâtonnets, puis, très vite, une partie de ces éléments s'allongent et se transforment en longs chondriocontes. Dans les cellules adultes, le chondriome apparaît toujours constitué par de très nombreux chondriocontes, parfois ramifiés, très minces, très allongés et onduleux. Ce chondriome est tout à fait semblable au chondriome de la cellule animale. Or, dans les régions de l'onglet où l'épiderme renferme toujours un pigment xanthophyllien jaune, on constate que celui-ci se trouve localisé dans les chondriocontes, tandis que les mitochondries en forme de grains et de bâtonnets restent incolores. Dans les variétés jaunes, on retrouve les mêmes particularités. Ici les chromoplastes sont donc représentés par de simples chondriocontes.

On peut trouver, dans les épidermes de beaucoup d'autres fleurs de Monocotylédones, ainsi que dans certains fruits [**146**], de nombreux exemples favorables à l'étude vitale du chondriome; c'est ainsi que les fleurs de *Clivia* m'ont permis d'observer la formation du pigment carotinien qui apparaît également dans des chondriocontes, mais sous forme d'aiguilles cristallines. Le chondriome est d'abord constitué par des grains, des bâtonnets et des chondriocontes incolores, puis les chondriocontes forment en leur sein de minces aiguilles cristallines de pigment rouge.

J'ai fait de nombreuses observations sur les plantes les plus diverses, et, de cette étude, on peut tirer les conclusions suivantes :

Les pigments du groupe des xanthophylles apparaissent dans les chromoplastes à l'état de très petites granulations confuses. Au contraire, les pigments du groupe des carotines sont toujours à l'état de grains nettement individualisés ou de cristaux.

Les pigments apparaissent soit dans des chondriocontes typiques (épiderme des fleurs de Tulipe, Glaïeul, *Clivia*), soit dans des chromoplastes plus gros que les mitochondries, en forme de corpuscules arrondis ou de fuseaux, mais dérivés de chondriocontes typiques (épiderme des fleurs d'*Iris*, de *Lilium croceum*, arille de *Taxus baccata*, épicarpe des fruits d'*Asparagus officinalis* et d'*Arum italicum*, racine de Carotte), soit enfin dans des chloroplastes dont la chlorophylle se résorbe et se trouve remplacée par un pigment xanthophyllien ou carotinien ; ce dernier cas s'observe dans la plupart des cellules des tissus parenchymateux des fleurs et des fruits.

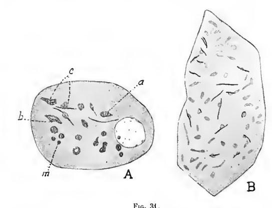


Fig. 31.

A, Cellule de la surrénale du Cobaye avec formation de pigment à l'état d'aiguilles cristallines au sein de plastes dérivés de mitochondries granuleuses. (Méthode de Regaud.) D'après Mulon. — B, Formation d'aiguilles cristallines de carotine aux dépens de chromoplastes dérivés de chondriocontes dans une cellule épidermique de pétale de Glaïeul (sur le vivant). On voit que, dans les deux cas, les phénomènes sont semblables.

Il est très curieux de constater que les processus de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens par l'intermédiaire des chondriocontes paraissent tout à fait superposables aux processus d'élaboration de certains pigments de la cellule animale récemment décrits par Policard, Mulon, Prenant, Asvadourova, Luna, etc. (fig. 31).

d) *Formation de granulations lipoïdes au sein de chondriocontes* [**113**, **146**]. — Mes observations ont démontré la production fréquente de granulations d'aspect graisseux au sein des chondriocontes destinés à se transformer en amylo-chloro- ou chromoplastes. Ces granulations ne se rencontrent ordinairement pas dans les Dicotylédones, mais sont assez répandues chez les Monocotylédones et surtout dans les *Iris*. C'est ainsi que, dans l'*Iris germanica*, les chondriocontes destinés à se transformer en plastes des feuilles, des bractées, et des pièces du périanthe se remplissent de petites granulations réfringentes et osmio-réductrices. Ces granulations ne sont que transitoires et se résorbent en général partiellement ou totalement après l'élaboration de l'amidon, de la chlorophylle et de la xanthophylle, bien qu'elles ne paraissent pas avoir de relation directe avec la production de l'amidon et des pigments. Il est difficile de préciser le rôle de ces formations. Toutefois, dans les cellules nourricières des grains de pollen où elles sont spécialement abondantes, elles paraissent servir à la nutrition des grains de pollen.

Il n'est pas impossible que ces granulations, qui paraissent représenter des lipoïdes peut-être joints à des graisses neutres, ne correspondent aux lécithines si fréquentes dans les fleurs et les feuilles, d'après les travaux de Stoklasa.

3° Caractères vitaux du chondriome [**121**, **122**, **126**, **146**]. — Les cellules épidermiques des fleurs de Tulipe et d'Iris et en particulier celles des bractées d'Iris m'ont permis d'observer les caractères physiologiques du chondriome, les altérations qu'il subit sous certaines influences physico-chimiques, la manière dont il se comporte vis-à-vis des réactifs chimiques.

Dans les jeunes bractées d'*Iris germanica*, le cytoplasme se trouve réduit à une mince zone pariétale entourant une énorme vacuole qui occupe presque toute la cellule. Il est relié au noyau, situé sur l'un des côtés de la cellule, par de minces brides traversant la vacuole. Le chondriome se détache très nettement du cytoplasme d'aspect homogène et hyalin par une réfringence un peu plus accusée quoique toujours très faible (fig. 35, 1 et 2). Il est constitué par des éléments en forme de grains, de bâtonnets et de chondriocontes. Le cytoplasme est le siège de courants plus ou moins rapides allant du noyau à la périphérie et inversement, entraînant lentement les éléments du chondriome. Les chondriocontes se déplacent en se déformant sans cesse, ce qui montre leur extrême plasticité et leur consistance semi-solide. J'ai compté qu'ils peuvent se déplacer du noyau à la périphérie en une seconde environ. On observe dans le cytoplasme, en dehors de ces éléments, de petits grains osmio-réducteurs ordinairement plus petits que les mitochondries granuleuses et qui s'en distinguent par une vive réfringence et des mouvements plus rapides; ceux-ci sont souvent très nombreux (voir p. 84).

La plupart des colorants vitaux sont sans effet sur les mitochondries et ne se fixent que sur le contenu de la vacuole riche en composés phénoliques. Les colorants vitaux préconisés pour les mitochondries (violet de Dahlia et vert Janus) ne pénètrent pas facilement à travers les parois cellulosiques. Cependant, j'ai parfois réussi à obtenir une coloration diffuse du chondriome par le violet de Dahlia.

Le réactif iodo-ioduré conserve les mitochondries en les jaunissant plus ou moins; les solutions d'acide osmique les conservent également et ne les brunissent pas.

Les mitochondries se révèlent comme les éléments les plus fragiles de la cellule. Elles sont sensibles au moindre trouble survenu dans l'équilibre osmotique de la cellule. En milieu hypotonique, elles se transforment rapidement en grosses vésicules aqueuses, à paroi dense, qui, en grossissant, arrivent au contact les unes des autres et simulent une structure alvéolaire du cytoplasme. Ces vésicules peuvent éclater par la pression de leur liquide intérieur. Une pression exercée sur la lamelle de la préparation peut déterminer la même transformation des mitochondries en vésicules. Les mitochondries sont également sensibles à l'action de la chaleur : une température de 45 à 50 degrés suffit à les détruire. Tous ces caractères correspondent à ceux qui ont été observés pour les mitochondries de la cellule animale.

4° Dégénérescence du chondriome [**127**, **146**]. — J'ai étudié la dégénérescence du chondriome dans des observations vitales sur les épidermes des fleurs. Dans la majorité des cas, la dégénérescence du chondriome pendant la fanaison de la fleur se manifeste par une transformation des chondriocontes et des mitochondries granuleuses en vésicules, puis par la résolution de la paroi de ces vésicules en petites granulations réfringentes.

Au contraire, dans les cellules épidermiques d'*Iris*, les plastes présentent, au moment de la dégénérescence, des phénomènes très spéciaux, consistant en une production, au sein des plastes, d'une grande quantité de petites granulations lipoïdes, qui se répandent dans le cytoplasme par suite de la résorption du substratum mitochondrial. Une fois mises en liberté dans le cytoplasme, ces granulations se fusionnent en gros globules. Les plastes subissent donc une sorte de dégénérescence graisseuse qui a déjà été observée par Laurent dans des cas pathologiques (maladie des feuilles des Palmiers). Les mitochondries qui coexistent avec les plastes, au contraire, ne présentent pas ces phénomènes.

5° Fixation du chondriome [**123**, **146**]. — Les épidermes des fleurs d'*Iris* et de *Tulipa* m'ont permis d'établir une comparaison aussi étroite que possible entre l'aspect du cytoplasme vivant et celui du cytoplasme fixé, et d'apporter ainsi la plus importante contribution qui ait été faite jusqu'ici à l'étude de la fixation du cytoplasme. Il résulte de cette étude que la difficulté de fixation du chondriome a pour cause principale : 1° l'action nocive de l'alcool et de l'acide acétique sur les mitochondries; 2° les troubles occasionnés par le fixateur dans l'équilibre osmotique de la cellule.

Les fixateurs ordinairement employés en cytologie détruisent le chondriome, parce qu'ils renferment de l'acide acétique ou de l'alcool, et donnent au cytoplasme une structure granulo-alvéolaire artificielle, mais conservent très bien le noyau; ce sont des fixateurs nucléaires. Le chondriome résiste assez bien aux liquides de Flemming, au formol et aux solutions aqueuses de sublimé ou d'acide picrique. Les méthodes mitochondriales (liquide chromo-osmique de Meves et le mélange bichromate-formol de

Regaud) conservent très bien les mitochondries et reproduisent aussi fidèlement que possible l'aspect que présente le chondriome sur le vivant. Ce sont donc des fixateurs protoplasmiques par excellence, et leurs résultats sont absolument sûrs. Mes recherches montrent, en outre, que la postchromisation (traitement prolongé des pièces dans une solution de bichromate de potassium, après la fixation) n'est pas absolument nécessaire; elle semble n'agir que comme mordant.

Les amyloplastes et les chromoplastes dérivés des mitochondries offrent exactement les mêmes caractères que les mitochondries vis-à-vis des fixateurs. Seuls les chloroplastes se montrent beaucoup plus résistants que les mitochondries. Cette résistance paraît être en relation avec la présence de la chlorophylle. Mes résultats établissent donc que les mitochondries de la cellule végétale, de même que les plastes qui en dérivent, présentent les mêmes caractères que les mitochondries de la cellule animale.

6° Origine et évolution des plastes. Interprétations générales [**86, 90, 96, 105, 106, 107, 117, 130, 134, 137, 138, 144, 146**]. — a) *Mitochondries et plastes*. — Mes recherches effectuées sur un très grand nombre de plantes, pendant dix ans, démontrent donc d'une manière rigoureuse que les formations bien connues depuis les beaux travaux de W. Schimper, sous le nom de plastes, sont formées chez les Phanérogames à partir d'éléments morphologiquement et histochimiquement tout à fait semblables aux mitochondries de la cellule animale. Les formes juvéniles de ces plastes étaient restées jusqu'ici inconnues dans les Phanérogames, parce que l'on ne possédait pas de méthode qui permette de les fixer et de les colorer, et que les observations vitales dans les cellules embryonnaires sont le plus souvent impossibles à réaliser. Il résulte également de mes recherches que les plastes, une fois différenciés, conservent les formes et les caractères histochimiques des mitochondries et s'en distinguent seulement par leurs dimensions plus volumineuses. Et même dans la plupart des cas, les amyloplastes et les chromoplastes présentent pendant tout leur développement l'aspect et les dimensions tout à fait caractéristiques de chondriocontes, ce qui, jusqu'ici, avait échappé aux observations[1].

De ces faits incontestables, j'avais cru pouvoir conclure d'abord, avec Lewitsky et Pensa, après mes premières recherches [**86, 90, 105, 106, 107, 130, 134, 137, 138, 144, 146**], que les plastes se différenciaient dans les Phanérogames, à partir d'un certain nombre des éléments du chondriome, et que, une fois différenciés, ils constituaient en quelque sorte une variété de mitochondries spécialisées dans une fonction déterminée, et pouvant acquérir des formes plus volumineuses que les autres mitochondries. Cette conclusion fut adoptée ensuite par un certain nombre d'auteurs qui ont vérifié mes résultats (Forenbacher, Maximov, Wagner, Cowdry, Mirande, Alvarado, Meves).

Mais cette manière de voir soulevait une objection théorique. En effet, si, dans les

[1] La forme de chondriocontes qu'affectent la plupart des plastes non chlorophylliens semble avoir été parfois observée par Schimper, mais cet auteur admet alors que cette forme est due à la production d'un cristalloïde de protéine, en forme d'aiguille, au sein du plaste. Mes recherches ont montré que cette interprétation est inexacte, et que les cristalloïdes de Schimper sont, au moins pour la plupart, de simples chondriocontes.

Phanérogames l'origine des plastes était restée inconnue jusqu'ici, il n'en est pas de même dans la plupart des Algues. Chez ces Végétaux, en effet, les plastes conservent de la chlorophylle pendant tout le développement (y compris dans l'œuf); de plus, ils sont souvent en très petit nombre dans chaque cellule, parfois même il n'en existe qu'un seul, très volumineux et de forme complexe, comme chez les Spirogyres, et il est depuis longtemps démontré que ces chloroplastes se transmettent de cellules en cellules par l'intermédiaire de l'œuf. On comprend donc difficilement que les chloroplastes des Algues, qui sont incontestablement homologues des plastes des Phanérogames, n'aient pas la même origine que ces derniers. J'avais, à cet effet, observé à l'aide des méthodes mitochondriales diverses espèces d'Algues [**96**, **117**] : *Spirogyra*, *Cosmarium*, Diatomées, mais partout il m'avait été impossible de mettre en évidence la présence de mitochondries, et comme, d'autre part, le chloroplaste unique des Spirogyres et les chloroplastes très différenciés et très peu nombreux de *Cosmarium* et des Diatomées présentent les caractères de coloration des mitochondries, j'avais formulé l'hypothèse que, dans ces Algues, le chondriome se trouve condensé en un seul organite ou en un très petit nombre d'organites correspondant aux chloroplastes et réunissant toutes les fonctions du chondriome des autres cellules.

Cependant, les travaux de Scherrer, Sapehine et Mottier démontrèrent que, dans les Bryophytes, la chlorophylle persiste comme dans les Algues à tous les stades du développement, et que, dans l'oosphère, il existe à la fois des chloroplastes et des mitochondries ; les deux catégories d'éléments se transmettent de cellules en cellules à partir de l'œuf. Plus tard, à l'aide de méthodes spéciales, j'ai pu à mon tour parvenir à mettre en évidence dans les Chlorophycées et les Diatomées, en dehors des chloroplastes, la présence de mitochondries bien différenciées qui avaient échappé à mes premières recherches [**174**, **175**, **180**].

Comment expliquer ces faits en apparence contradictoires. Scherrer et Sapehine n'hésitent pas à considérer les mitochondries et les plastes comme des formations tout à fait différentes. Pour expliquer le cas des Phanérogames, ils admettent que les plastes existent à l'état de petits grains dans les méristèmes et sont en voie d'active division, ce qui leur donne des formes d'haltères. Comme ces plastes ont alors les mêmes dimensions et se colorent de la même manière que les mitochondries qui offrent les formes de grains, bâtonnets et filaments, ils se confondraient avec elles. Mais, dès que les cellules se différencient, les plastes grossissent et prennent l'aspect de gros corpuscules qui ne permettent plus aucune confusion avec les mitochondries lesquelles conservent leurs dimensions et leurs formes primitives[1]. Scherrer et Sapehine pensent d'ailleurs que les mitochondries ne sont pas des éléments constitutifs du cytoplasme, mais probablement de simples produits de réserve. Cette théorie a été adoptée par Arthur Meyer.

Mottier, qui, à la suite de ses recherches sur les Bryophytes, admet de même l'in-

[1] Le professeur Prenant fait très justement remarquer que les figures représentées par Sapehine pour les Phanérogames viennent à l'encontre de sa théorie et paraissent démontrer que les plastes se différencient à partir des mitochondries (Prenant, Analyse du travail de Sapehine, *Année biologique*, 1917, p. 6).

dépendance des plastes et des mitochondries, mais, qui s'appuie aussi sur des observations très exactes dans les cellules de Phanérogames, formule une théorie plus correcte. Pour lui, il existe dans les Phanérogames deux catégories d'organites constitutifs du cytoplasme, de mêmes formes et ayant les mêmes caractères histochimiques, doués du pouvoir de se diviser et jouant un rôle dans l'hérédité. L'une élabore de l'amidon et se transforme en chloroplastes ; elle correspond donc aux plastes. L'autre ne présente pas de variations sensibles au cours du développement et correspond seule aux mitochondries. Selon Mottier, il serait possible de distinguer les plastes, même dans les méristèmes, par leurs dimensions toujours légèrement supérieures à celles des mitochondries.

En s'appuyant exclusivement sur des recherches exécutées dans les Phanérogames, Meves a exprimé une théorie exactement opposée à celles de Scherrer, Sapehine et Mottier. L'éminent cytologiste constate que, dans les méristèmes, les techniques mitochondriales révèlent à la fois des chondriocontes et des grains, et que tous les chondriocontes se transforment en chloroplastes, tandis que les grains subsistent après la différenciation des chloroplastes. Il admet que seuls les chondriocontes correspondent aux mitochondries, tandis que les grains ne sont autre chose que des grains de métaplasme. De la sorte, tout le chondriome se transformerait donc en plastes dans les cellules adultes des Végétaux. On pourrait conséquemment admettre que seuls les plastes représentent les mitochondries dans les cellules végétales.

J'ai montré que ces théories ne sont pas plus les unes que les autres d'accord avec les faits [**138, 144, 146, 171, 172, 182**]. La théorie de Sapehine, Scherrer et A. Meyer est insoutenable : elle repose sur des observations incomplètes et sur une connaissance insuffisante de ce qui a été décrit dans les cellules animales sous le nom de mitochondries. Il est, en effet, démontré par mes recherches que dans les cellules adultes tous les plastes dépourvus de chlorophylle conservent les formes caractéristiques des mitochondries, et, d'autre part, les travaux de cytologie animale ont fourni la preuve que les mitochondries sont bien des organites constitutifs du cytoplasme. Mes recherches font voir, en outre, contrairement à l'opinion de Mottier, que le chondriome des cellules embryonnaires est tout à fait superposable au chondriome de la cellule animale : il est constitué par des éléments de mêmes dimensions parmi lesquels il n'est pas possible de distinguer ceux qui évolueront en plastes de ceux qui resteront mitochondries (fig. 32 et 33). Enfin, elles établissent que les mitochondries qui ne se transforment pas en plastes ne sont pas exclusivement sous forme de grains, comme l'admet Meves, et que les grains qui ne participent pas à la formation des plastes peuvent prendre souvent, après la différenciation de ceux-ci, l'allure de chondriocontes typiques ; ce sont donc bien des mitochondries (fig. 35).

b) *Présence dans les végétaux chlorophylliens de deux variétés de mitochondries* [**147, 148, 151, 157, 158, 159, 160, 165, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 184**]. — En présence des faits tirés de mes recherches personnelles sur les Phanérogames et sur les Algues, et de ceux obtenus par Scherrer, Sapehine et Mottier sur les Bryophytes,

j'ai d'abord pensé que les plastes dériveraient de la différenciation d'une partie des mitochondries des cellules embryonnaires dans les Phanérogames, tandis que, dans les Algues et les Bryophytes, la persistance de la chlorophylle dans l'œuf aurait eu pour conséquence de créer une variété spéciale de mitochondries évoluant parallèlement aux autres [**107**, **130**, **134**, **137**, **138**, **146**], théorie adoptée par Alvarado.

Cependant, les premiers résultats obtenus par mes élèves, MM. Emberger et Mangenot, sur les Ptéridophytes et sur les Algues, et l'observation très attentive de l'évolution du chondriome dans un certain nombre de racines, m'amena à formuler, dès le début de 1920, une nouvelle théorie, beaucoup plus logique, qui lève toutes les difficultés et s'accorde avec tous les faits tirés de l'étude de l'évolution des plastes dans la série végétale [**147**, **148**, **151**, **157**, **158**, **159**, **160**, **165**, **170**, **171**, **172**, **173**, **174**, **175**, **181**].

En observant très attentivement les cellules du méristème de diverses racines, on constate que, même dans les cellules les plus jeunes, il peut y avoir élaboration de petits grains d'amidon. Or, parmi les éléments tout à fait semblables qui constituent le chondriome, il y en a seulement un certain nombre qui élaborent de l'amidon, les autres ne participent pas à ce phénomène. Il paraît donc exister déjà, à ce moment, des éléments prédestinés à l'élaboration de l'amidon (fig. 29, A). En suivant l'évolution du chondriome, on constate que, pendant la différenciation cellulaire, un certain nombre des éléments du chondriome deviennent un peu plus gros que les autres, tout en conservant les formes caractéristiques des mitochondries, et représentent alors les amyloplastes.

De là vient l'idée que les mitochondries qui constituent le chondriome des cellules des méristèmes, bien que morphologiquement et chimiquement semblables, n'ont pas toutes la même valeur, et que les unes sont déjà prédestinées à une fonction spéciale. Je suis donc arrivé à penser que le chondriome des cellules embryonnaires des Phanérogames est constitué par deux catégories de mitochondries conservant leur individualité pendant l'évolution des cellules : l'une de ces variétés correspondrait aux plastes et pourrait prendre, au cours du développement, des dimensions un peu plus élevées en vertu de sa puissante activité élaboratrice; l'autre, celle qui persiste avec ses dimensions primitives après la différenciation des plastes (que je désigne provisoirement sous le nom de mitochondries inactives à la photosynthèse), serait affectée à des fonctions encore mal déterminées. Ces deux variétés ont les mêmes formes dans les Phanérogames, et il est impossible de les distinguer dans les méristèmes, et même souvent aussi dans les cellules adultes, quand elles sont dépourvues de chlorophylle; au contraire, par suite de la persistance de la chlorophylle, elles sont toujours distinctes dans certains Cryptogames (Bryophytes et Algues). Enfin, dans certaines Algues (Spirogyres), la variété affectée à la photosynthèse se trouverait condensée en un organe volumineux, unique par cellule, que l'on peut comparer au *nebenkern* des spermatozoïdes de certains animaux, corps mitochondrial résultant de la concrescence de tous les éléments du chondriome.

Envisagés de la sorte, les plastes ne sont plus le résultat de la différenciation des

mitochondries; ce sont des mitochondries d'une lignée spéciale; et effectivement, quand

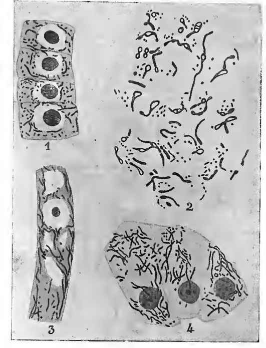


Fig. 32.

1, Cellules du méristème d'une racine de Courge. Le chondriome est constitué par des chondriocontes, de courts bâtonnets et des grains. — 2, Chondriome de cellules du parenchyme cortical de la même racine : les chondriocontes se sont épaissis et ont une tendance à se segmenter : ils élaborent des grains d'amidon composés. Les mitochondries granuleuses et les courts bâtonnets conservent leurs formes primitives. — 3, Chondriome d'un jeune asque de *Pustularia vesiculosa*. — 4, Chondriome des cellules hépatiques de la Grenouille. On constate que le chondriome de *Pust. vesiculosa* et celui du foie de Grenouille sont absolument semblables à celui de la racine de Courge. (Grossissement : 1.500. Méthode de Regaud.)

on suit l'évolution du chondriome chez les Phanérogames, on est frappé de constater que les plastes conservent toujours tous les caractères des mitochondries, et, en général,

ne se distinguent réellement des mitochondries inactives, qui coexistent à côté d'eux, que lorsqu'ils sont à l'état de chloroplastes. En ce cas ils deviennent de gros corpuscules qui ne sont en somme que des mitochondries volumineuses dont les dimensions s'expliquent par le fait qu'ils sont chargés de chlorophylle.

La présence de deux variétés de mitochondries dans les Végétaux chlorophylliens a été ensuite démontrée par les recherches de MM. Emberger et Mangenot.

c) *Caractères morphologiques et histochimiques des deux variétés de mitochondries* [**172**, **160**, **174**]. — On pouvait encore objecter, avec Mottier, que, du fait que les deux catégories d'éléments n'ont pas une commune origine et évoluent séparément, c'est qu'ils n'ont pas la même nature et correspondent à des formations de significations différentes. De récentes recherches de ma part ont eu pour but de démontrer la nature mitochondriale des deux catégories d'éléments : 1° en suivant leur évolution pendant toute la durée du développement des cellules, de manière à m'assurer qu'ils conservent toujours les caractères morphologiques des mitochondries; 2° en comparant les caractères histochimiques des deux catégories d'éléments, et en m'assurant qu'elles ont l'une et l'autre les caractères des mitochondries de la cellule animale.

Il est en général impossible, contrairement à l'opinion de Mottier, de distinguer les deux catégories de mitochondries dans les méristèmes, parce que, si les plastes revêtent le plus souvent la forme de chondriocontes et les mitochondries inactives celles de bâtonnets et de grains, on trouve aussi quelques plastes à l'état de grains et de bâtonnets, et quelques mitochondries inactives à l'état de chondriocontes. Il n'en est pas de même dans certaines racines de Courge où les plastes sont exclusivement représentés par des chondriocontes [**172**] et les mitochondries inactives par des grains ou bâtonnets (fig. 32, 1, et 33, A). Il m'a donc été possible de suivre séparément, dans ces racines, l'évolution des deux catégories d'éléments, et de m'assurer que toutes deux ont les caractères morphologiques des mitochondries.

Le chondriome des cellules du méristème est constitué par des grains, bâtonnets et chondriocontes de mêmes dimensions qui forment un ensemble absolument superposable au chondriome de la cellule animale (cellules de foie de Grenouille, par exemple) (fig. 32, 4).

Cependant, en observant attentivement l'évolution du chondriome pendant la différenciation cellulaire, on constate que seuls les chondriocontes représentent les plastes (fig. 33, *a*). Dans les cellules du cylindre central, ils s'allongent seulement sans subir la moindre différenciation (fig. 33, *c*). Dans le parenchyme cortical, au contraire, ils s'épaississent notablement et ont une tendance à se segmenter en bâtonnets et en grains (fig. 33, *b*). Dans l'axe hypocotylé, les chloroplastes qui dérivent également des chondriocontes offrent l'aspect de gros éléments en forme de filaments, grains et bâtonnets (fig. 33, *d*).

Les grains et les bâtonnets du méristème, qui représentent les mitochondries inactives, conservent, au contraire, toujours à peu près les mêmes dimensions au cours du développement, mais leurs formes se modifient : ils prennent parfois l'aspect de chondriocontes typiques et montrent fréquemment des stades de division en forme d'haltères (fig. 33, *a'*, *b'*, *b''*, *c'* et *d'*).

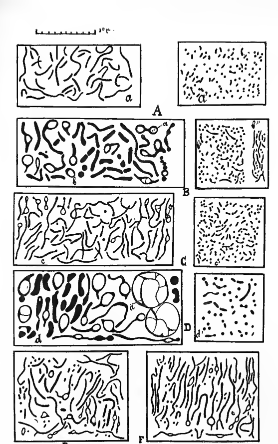


Fig. 33.

A, Chondriome dans les cellules du méristème de la racine de Courge; on a représenté séparément les amyloplastes *(a)* et les mitochondries inactives *(a')*. — B, *Id.*, dans les cellules du parenchyme cortical : *b*, amyloplastes; *a*, amidon; *b'*, mitochondries inactives; *b''*, mitochondries inactives prenant dans quelques cas l'aspect de chondriocontes typiques. — C, Chondriome des cellules du parenchyme du cylindre central : *c*, amyloplastes; *a*, amidon; *c'*, mitochondries inactives. — D, Chondriome dans les cellules du parenchyme cortical de l'axe hypocotylé : *d*, chloroplastes dont quelques-uns forment de gros grains d'amidon composé *(a)*; *d'*, mitochondries inactives. — E, Chondriome du foie de Grenouille. — F, Chondriome des basides de *Psalliota campestris*. Les mitochondries forment, dans les Champignons aussi bien que dans le foie de Grenouille, des vésicules dont on ignore encore la signification. (Méthode de Regaud.)

Les deux catégories d'éléments ont donc les mêmes formes, quand on les regarde pendant l'ensemble du développement des cellules : grains, bâtonnets, filaments; mais ces formes ne correspondent pas toujours à un stade déterminé du développement et il y a des stades où l'une est a l'état de grains et l'autre à l'état de filaments, ce qui permet de les distinguer parfois. D'autre part, les plastes peuvent prendre, au cours du développement, des formes beaucoup plus volumineuses, ce qui fait qu'à certains stades on a l'impression que les cellules renferment deux chondriomes superposés: l'un formé par de grosses mitochondries, l'autre par de petites.

Si l'on compare ces deux catégories d'éléments aux mitochondries des cellules du foie de Grenouille (fig. 33, E), ou à celles d'un Champignon (fig. 33, F), on constate que ce sont les plastes qui ressemblent le plus aux mitochondries animales et à celles des Champignons. D'une manière générale, les mitochondries inactives sont un peu plus petites que les mitochondries animales et sont plus rarement à l'état de longs chondriocontes. Les plastes ont en général les mêmes dimensions que les cellules animales, mais acquièrent dans certaines phases des dimensions beaucoup plus volumineuses.

Ces recherches ont été complétées par une étude des caractères histochimiques des deux catégories de mitochondries par rapport aux mitochondries des Champignons dont on ne peut contester l'homologation avec les mitochondries animales.

Déjà Cowdry avait fait une étude comparative méticuleuse des caractères morphologiques et microchimiques du chondriome des cellules du pancréas de la Souris et de celui de la racine de Pois où les deux catégories de mitochondries se confondent dans les méristèmes et n'ont pas été distinguées par l'auteur. Cowdry avait conclu à l'identité des mitochondries dans les deux cas, y compris bien entendu celles qui se transforment en plastes. Des observations de même ordre entre le chondriome des Ptéridophytes (y compris les plastes) et celui de divers organes de la Grenouille (rein et foie) avaient été faites par mes élèves MM. Emberger et Mangenot et avaient abouti au même résultat. Mes recherches sur ce point [**160** et **174**] ont eu comme objet un examen comparatif aussi minutieux que possible du chondriome des cellules épidermiques des pétales de *Tulipa* où les deux variétés existent et du chondriome d'un *Saprolegnia*, trouvé sur un cadavre de Mouches, et où les mitochondries sont très faciles à observer sur le vivant.

Dans les deux cas, le chondriome présente, en observations vitales, le même aspect morphologique et la même réfringence. Dans la Tulipe, il est constitué par de longs et minces chondriocontes onduleux, parfois ramifiés, qui représentent les plastes et dans les variétés jaunes servent de substratum à la xanthophylle, et par des mitochondries inactives en forme de grains ou de bâtonnets (fig. 34, A). Dans le *Saprolegnia*, il est formé parfois par des grains et des bâtonnets, mais surtout par des chondriocontes très longs, souvent ramifiés et tout à fait semblables aux plastes de Tulipe et que, d'ailleurs, A. Meyer, qui les avait observés, avant la découverte des mitochondries, dans un Champignon du même groupe, avait assimilés à des plastes (fig. 34, E). Dans les deux cas, le chondriome ne fixe pas les colorants vitaux. En milieu hypotonique, les plastes et les mitochondries inactives de la Tulipe (fig. 34, B et C), de même que les mitochondries

de *Saprolegnia* (fig. 34, F et G) se transforment rapidement en vésicules, altération bien connue dans la cellule animale (Fauré-Fremiet, R. Lewis). Une température de 45 à 50 degrés suffit à détruire tous les éléments du chondriome de la Tulipe, aussi bien que ceux du *Saprolegnia*, comme l'ont constaté Policard et Cowdry dans la cellule animale.

Le réactif iodo-ioduré conserve, dans les deux cas, les mitochondries et les jaunit.

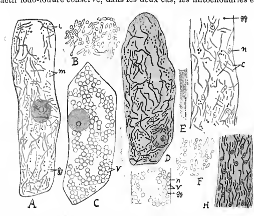


Fig. 34. — Comparaison entre le chondrimoe des cellules épidermiques des pétales de *Tulipa* et celui d'un *Saprolegnia*.

A, Cellule épidermique de Tulipe blanche, sur le vivant : *c*, chondriocontes représentant les plastes ; *m*, mitochondries inactives ; *gg*, granules lipoïdes. — B, Début de l'altération des chondriocontes de la même cellule sous l'influence d'un milieu hypotonique. — C, Cellule analogue examinée en milieu hypotonique et dans laquelle tout le chondriome est transformé en grosses vésicules (V). — D, Cellule semblable, sur une préparation obtenue par la méthode de Regaud. — E, Filament de *Saprolegnia* observé sur le vivant : *n*, noyau ; *c*, mitochondries sous forme de chondriocontes ou de bâtonnets ; *gg*, granules lipoïdes. — F, Début de l'altération du chondriome d'un filament semblable sous l'influence d'un milieu hypotonqua. — G, Portion de filament dans lequel tout le chondriome s'est transformé en grosses vésicules (V) sous l'influence du milieu hypotonique. — H, Filament du même Champignon traité par la méthode de Regaud.

Le chondriome est également conservé dans les deux cas par une solution d'acide osmique qui ne brunit pas les mitochondries. Enfin, tous les éléments du chondriome de la Tulipe et ceux du *Saprolegnia* se comportent de même vis-à-vis des fixateurs et se colorent électivement par les méthodes mitochondriales (fig. 34, D et H).

Si l'on ajoute à ces caractères communs que, pour la cellule animale, les travaux de Prenant et de quelques autres auteurs ont établi que les pigments se forment dans les mitochondries par des processus semblables à ceux de l'élaboration de la xanthophylle par les plastes de la Tulipe (fig. 31), on en arrive à la conclusion que ces deux catégories d'organites du cytoplasme des Végétaux chlorophylliens sont l'une et l'autre

des mitochondries. Ces deux catégories d'éléments passent exactement par les mêmes formes, au cours de leur évolution, mais ces formes sont, en général, différentes à un même stade du développement, ce qui permet de les distinguer.

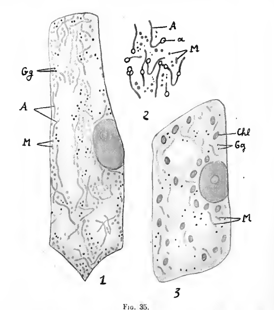


Fig. 35.

1, Cellule épidermique d'une feuille d'*Iris germanica*, sur le vivant. Le chondriome est constitué par des chondriocontes représentant les amyloplastes (A) et par des mitochondries en forme de grains et de bâtonnets (M). On observe en outre dans le cytoplasme de nombreux grains lipoïdes (Gg). — 2. Portion du cytoplasme d'une cellule semblable : les amyloplastes (A) forment de petits grains d'amidon *(a)*. — 3, Cellule du mésophylle de la même feuille; Chl, chloroplastes dérivés de chondriocontes; M, mitochondries inactives, en forme de chondriocontes ou de bâtonnets; Gg, grains lipoïdes. On voit qu'ici les mitochondries inactives affectent la forme de chondriocontes typiques, ce qui montre qu'il n'y a pas de différence de forme entre les mitochondries et les plastes. (Grossissement 1.500.)

On voit donc qu'il n'y a pas de critérium qui permette d'assimiler, avec Mottier, les mitochondries inactives plutôt que les plastes aux formations connues dans la cellule animale sous le nom de mitochondries. Bien au contraire, les plastes par leurs formes de longs chondriocontes ressemblent, en général, davantage aux

mitochondries animales qu'aux mitochondries inactives. D'autre part, ces dernières ont incontestablement les caractères des mitochondries dont il n'est pas possible de les séparer avec Meves, car elles affectent également, à certains stades, les formes de chondriocontes typiques (fig. 35, 3).

Mes recherches montrent donc qu'en réalité ces deux catégories d'éléments ont les caractères des mitochondries, répondent à la définition des mitochondries : ce sont des organites incapables de se former autrement que par division, en forme de grains, bâtonnets et chondriocontes, pouvant passer de l'une à l'autre de ces formes, et caractérisés par tout un ensemble de propriétés physiques et chimiques semblables. Il n'est donc pas possible de les séparer.

Cette théorie a trouvé sa démonstration dans les recherches[1] de MM. Emberger et

[1] Dans ses recherches sur les Ptéridophytes, M. Emberger a constaté que, chez les Filicinées, l'oosphère renferme un chondriome tout à fait semblable à celui de la cellule animale dans lequel il n'est pas possible de distinguer les plastes des autres mitochondries. Cependant, dans les cellules du prothalle aux dépens desquelles se constituent les oosphères, on trouve à la fois des chloroplastes et des mitochondries, et, au cours de la formation de l'oosphère, M. Emberger a montré que les chloroplastes perdent leur chlorophylle et prennent peu à peu l'aspect de mitochondries qui se confondent finalement avec les mitochondries inactives. Dans l'embryon, issu de cette oosphère, les plastes se différencient de nouveau en chloroplastes, dans la tige et dans les feuilles, tandis qu'ils prennent l'état de chondriocontes dans la racine. Dans les cellules épidermiques des feuilles destinées à donner naissance au sporange, on observe à la fois des chloroplastes et des mitochondries inactives. Les chloroplastes perdent leur amidon et leur chlorophylle et prennent, dans la cellule centrale du sporange, l'allure de mitochondries typiques qui se confondent absolument avec les mitochondries inactives dans les jeunes spores, puis ils reprennent le caractère de chloroplastes dès la germination de la spore. Dans les Sélaginelles, M. Emberger a constaté que, dans les cellules du méristème et dans les spores, les plastes sont représentés par un unique organite en forme de filament ou de croissant accolé au noyau, déjà signalé par Sapebine et Dangeard, bien distinct par sa dimension des mitochondries inactives qui coexistent avec lui. Cet organite se divise pour former, dans les cellules adultes, les plastes qui restent d'ailleurs en très petit nombre.

Enfin, les recherches de M. Mangenot ont démontré que les Algues se comportent différemment selon que, chez elles, la chlorophylle persiste à tous les stades du développement ou qu'elle disparaît dans les organes sexuels. Dans le premier cas, les plastes se distinguent par leur teinte à tous les stades du développement, y compris dans l'œuf; il y a, par conséquent, toujours coexistence de chloroplastes et de mitochondries. C'est le cas des *Vaucheria* où M. Mangenot a démontré, après Rudolph et Moreau, la présence à tous les stades de gros chloroplastes et de petites mitochondries incolores : ces deux catégories d'organites, malgré la différence considérable de leurs dimensions, offrent des analogies de formes et se divisent en même temps dans certaines phases du développement. C'est aussi le cas des Fucacées, mais ici la chlorophylle perd son intensité dans l'oogone et dans la cellule apicale, et les chloroplastes y affectent la forme de bâtonnets assez semblables à des mitochondries. Le second cas se trouve réalisé par les Floridées et les Characées. Dans les Floridées, les cellules du thalle renferment de gros chloroplastes en forme de rubans, parfois anastomosés en réseaux, et de petites mitochondries. Dans les parties du thalle, peu riches en chlorophylle, ces éléments s'amincissent et prennent la forme de chondriocontes, et dans les rhizoïdes, où il n'y a pas de chlorophylle, il devient impossible de distinguer les plastes des mitochondries inactives. L'oosphère dérive d'une cellule ordinaire du thalle pourvue de gros chloroplastes : on y assiste à une régression de la chlorophylle et conséquemment les plastes prennent bientôt l'allure de mitochondries; l'oosphère montre alors un chondriome dans lequel toute distinction entre plastes et mitochondries est impossible. Dans les cellules du carpogone issues du développement de l'oosphère, on assiste à la différenciation de gros chloroplastes aux dépens de ce chondriome. Chez les Characées, M. Mangenot a trouvé, dans la cellule apicale, de petits chloroplastes et des mitochondries, mais, dans l'oosphère, la chlorophylle fait défaut. M. Mangenot a observé dans

Mangenot, qui ne laissent plus aucun doute sur l'existence des deux catégories de mitochondries, et démontrent que les formes volumineuses des chloroplastes sont intimement liées à la présence de la chlorophylle ; dès que celle-ci disparaît, les chloroplastes reprennent les dimensions et l'aspect caractéristiques des mitochondries.

d. *Conclusions générales de mes recherches*[1] [**170, 173, 174**]. — La série des recherches entreprises à l'aide des méthodes mitochondriales, soit par moi-même sur les Phanérogames et certaines Algues, soit dans mon laboratoire par mes élèves sur les Ptéridophytes et les Algues, a donc permis de résoudre d'une manière définitive la question de l'origine et de l'évolution des plastes dans la série végétale.

C'est là un résultat dont on ne saurait nier l'importance, puisque ce sont les plastes qui servent de substratum morphologique à la photosynthèse, cette fonction qui domine toute la physiologie des Végétaux verts. On peut juger par là du progrès considérable apporté en cytologie végétale par l'introduction des méthodes dites mitochondriales.

Il ressort nettement de mes recherches que les Végétaux chlorophylliens possèdent un chondriome constitué par deux catégories de mitochondries, qui conservent leur individualité au cours du développement, dont l'une est affectée à la photosynthèse et l'autre à des fonctions qui ne sont pas encore précisées, mais qui sont probablement aussi liées au métabolisme cellulaire. Les deux catégories de mitochondries ont des formes originellement identiques et de mêmes caractères histochimiques mais les unes, correspondant aux plastes, peuvent, au cours de leur évolution, acquérir, grâce à leur puissante activité élaboratrice, des formes transitoires très volumineuses : ce sont alors les chloroplastes dont le volume exagéré est lié à la présence de chlorophylle. La dualité du chondriome est la seule distinction qui existe entre la cellule animale et la cellule végétale verte ; cette dualité est due à l'existence dans cette dernière de la fonction chlorophyllienne [**172, 174**].

Mes derniers résultats sur la nature et l'évolution des plastes et les théories qui s'en dégagent sont trop récents pour avoir reçu la consécration du monde scientifique. Je dois faire remarquer toutefois que l'opinion des zoologistes a une grande importance, car c'est à eux qu'est due la connaissance des mitochondries. Or, il est intéressant de constater que tous les zoologistes qui ont abordé l'étude de la cellule végétale n'ont eu aucune hésitation à identifier les plastes des Végétaux aux mitochondries animales et, parmi eux, l'opinion de Meves[2], qui a le plus contribué à l'étude des mitochondries, fait autorité.

les cellules destinées à former l'oosphère une régression des chloroplastes qui perdent leur chlorophylle et se transforment en mitochondries granuleuses ou en bâtonnets, lesquels se confondent absolument dans les jeunes oosphères avec les mitochondries inactives. Au cours du développement de l'oosphère, une partie des mitochondries granuleuses ou en bâtonnets, représentant les anciens chloroplastes, s'allongent et prennent la forme de chondriocontes typiques, tandis que les mitochondries inactives subsistent à l'état de grains. Les chondriocontes élaborent alors de nombreux grains d'amidon selon le processus bien connu par mes recherches, comme l'avait déjà constaté Mirande.

[1] Mes recherches ont été honorées d'une subvention de l'Académie des Sciences sur les fonds Bonaparte (M. Lecomte, rapporteur), ainsi que d'une subvention de la Caisse des recherches scientifiques.

[2] Bien qu'il n'admette pas la dualité des mitochondries, Meves n'hésite pas à assimiler les

B. — Mitochondries des Champignons.

[**73, 92, 93, 95, 98, 103, 117, 132, 152, 154, 156, 161, 164, 175**].

C'est à mes premières recherches (1911 et 1912) [**73, 92**] qu'on doit la découverte des mitochondries dans les Champignons.

Au moyen de coupes [**73, 92, 93, 117, 132**], fixées et colorées par les méthodes mitochondriales, faites dans les mycéliums de diverses moisissures (*Penicillium glaucum*, *Endomyces Magnusii*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus nigricans*, *Mortierella reticulata*, etc.) j'ai observé un chondriome bien caractérisé constitué parfois par des grains, des bâtonnets, mais surtout par des chondriocontes très allongés, onduleux, orientés le plus souvent parallèlement dans le sens de la longueur du filament. Ce chondriome se retrouve dans les conidiophores et dans les conidies du *Penicillium glaucum*, et l'on peut constater, pendant la formation des conidies, l'émigration d'une partie de ses éléments dans les jeunes conidies. La présence d'un chondriome a été observée également dans diverses Levures.

Enfin, j'ai pu suivre l'évolution du chondriome pendant le développement de l'asque de plusieurs Ascomycètes et en particulier chez le *Pustularia vesiculosa* [**92, 93, 98, 103, 117**], ainsi que dans des lamelles hyméniales de diverses Agaricinées.

Chez le *Pustularia vesiculosa*, la présence des mitochondries s'observe dans toutes les cellules du plectenchyme et des paraphyses. Ces mitochondries affectent parfois la forme de grains et de bâtonnets, mais sont surtout à l'état de chondriocontes. Dans les crochets ascogènes, le chondriome est composé par des grains ou des bâtonnets, et surtout des chondriocontes, rassemblés en masse confuse autour du noyau. Lors de la délimitation de l'asque aux dépens d'une cellule binucléée, au sommet du crochet, les deux noyaux sont entourés chacun d'une masse mitochondriale : les deux masses se

plastes aux mitochondries : « Si l'on veut contester l'identité des mitochondries animales et des mitochondries végétales, on peut tout aussi bien, comme l'a fait remarquer Guilliermond, contester celle du noyau » dit-il (Hist. krit. Unters. über die Plastosomen des Pflanzenzellen, *Arch. f. mik. Anat.*, 1917, p. 296). Ailleurs l'éminent cytologiste s'exprime ainsi : « L'opposition de A. Meyer et de son élève Schmidt ne peut avoir aucun poids, car les auteurs n'ont fait aucune observation et argumentent exclusivement sur des théories. » *(Ibid.*, p. 289.)

Dès 1913, mes recherches sur les mitochondries ont fait l'objet d'une flatteuse appréciation de M. Gaston Bonnier que je crois devoir citer ici : « Un autre savant français, Guilliermond, déjà connu par ses belles découvertes sur la structure intime et la reproduction des Champignons, vient de reprendre l'étude des mitochondries chez les Végétaux, et les résultats de ses nouvelles recherches exécutées avec une précision admirable viennent de paraître en 1911, 1912, 1913; elles se continuent, et, de temps en temps, on peut lire dans les *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* les communications de cet auteur révélant de nouveaux exemples de l'activité des mitochondries à propos des manifestations les plus diverses de la vie. Par la multiplicité des exemples, par les techniques les mieux appropriées, et, entre autres, en suivant la méthode de Regaud, par des figures nombreuses et d'une exécution parfaite, Guilliermond a précisé et étendu les résultats obtenus par W. Schimper. » (Gaston Bonnier, Chronique scientifique de la *Revue hebdomadaire*, 1913.)

confondent en une seule au moment de la fusion nucléaire (fig. 36, 1). Pendant la période de croissance de l'asque, le chondriome se dissémine dans tout le cytoplasme, et se présente surtout à l'état de longs et minces chondriocontes orientés dans le sens de la longueur de l'asque. Ces éléments offrent presque tous, sur leur trajet, de petites vésicules qui rappellent tout à fait les vésicules que l'on observe dans les chondriocontes

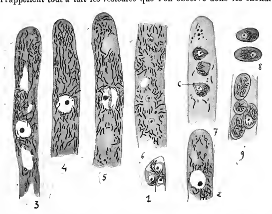


Fig. 36. — Evolution du chondriome dans l'asque de *Pustularia vesiculosa*.

1, Formation de l'asque aux dépens d'un crochet : le chondriome entoure le noyau. — 2 et 3, Asques encore jeunes : beaucoup d'éléments du chondriome affectent la forme de vésicules. — 4, Asque un peu avant la première mitose : les mitochondries ne sont plus vésiculeuses. — 5, Asque pendant la première mitose (plaque équatoriale). — 6, Asque pendant la troisième mitose : les figures de mitose sont vues transversalement. — 7, Formation des ascospores par recourbement des fibres de l'aster. Le chondriome occupe exclusivement le pôle opposé au centrosome (C). — 8, Ascospores plus développées. — 9, Portion d'un asque à la fin de son développement. (Méthode de Meves.)

amylogènes des racines de Phanérogames et qui sont déterminées par la présence dans ces éléments de petits grains d'amidon non colorés par les méthodes mitochondriales (fig. 36, 2 et 3).

Plus tard, lorsque l'asque a achevé sa croissance et un peu avant la première mitose, ces chondriocontes perdent leurs vésicules (fig. 36, 4). Au cours des mitoses successives de l'asque, on constate que les éléments du chondriome se trouvent répartis dans le cytoplasme, sauf dans les régions occupées par les asters des noyaux en mitose, lesquelles sont toujours dépourvues de mitochondries (fig. 36, 5 et 6). Lors de la délimitation des ascospores par recourbement des fibrilles de l'aster de chacun des noyaux, les chondriocontes s'accumulent en grande quantité autour du noyau, mais seulement au pôle opposé au centrosome (fig. 36, 7); dans le pôle occupé par l'aster,

les mitochondries font entièrement défaut. Ce n'est qu'après la disparition de l'aster et lorsque l'ascospore a déjà formé sa membrane cellulosique que les éléments du chondriome se répartissent dans tout le cytoplasme (fig. 36, 8 et 9). Après la formation des ascospores, il ne subsiste dans l'épiplasme qu'un très petit nombre de mitochondries.

Dans les lamelles hyméniales des Agaricinées, et notamment dans le *Psalliota campestris* [**93**, **98**, **117**], toutes les cellules du pseudoparenchyme renferment un chondriome constitué par des grains, des bâtonnets et des chondriocontes, très fréquemment vésiculeux. Dès leur naissance, les basides montrent un chondriome très riche, formé surtout par de longs chondriocontes présentant souvent sur leur trajet de grosses vésicules. Le chondriome se retrouve dans les basidiospores.

La présence très fréquente de mitochondries vésiculeuses [**95**, **98**, **117**] et de chondriocontes pourvus de vésicules sur leur trajet, et la ressemblance si étroite de ces figures avec celles qui se rapportent dans les Phanérogames à l'élaboration de l'amidon par les mitochondries, avaient attiré mon attention. Comme ces vésicules apparaissent dans l'asque de *Pustularia vesiculosa*, pendant les phases d'élaboration des produits de réserve de l'épiplasme, c'est-à-dire dans la période qui précède la première mitose, pour disparaître ensuite, j'avais pensé qu'elles pouvaient représenter la phase d'élaboration des corpuscules métachromatiques qui émigreraient ensuite dans les vacuoles et s'y dissoudraient, opinion adoptée ensuite par Beauverie, Lewitsky et Moreau. J'ai dû depuis renoncer à cette manière de voir, à la suite des travaux de Dangeard, qui a suivi sur le vivant la formation de la métachromatine, et après les observations vitales qu'à mon tour j'ai pu réaliser dans certains Champignons [**149**, **154**]. Il est cependant très vraisemblable d'admettre que la présence de ces vésicules à des stades déterminés du développement des cellules témoigne de l'élaboration d'un produit que je n'ai pas pu déceler, mais mes observations ne m'ont pas permis de mettre en évidence d'une manière précise le rôle du chondriome dans les Champignons.

Par des recherches plus récentes, j'ai trouvé des Champignons favorables aux observations vitales, ce qui m'a permis de contrôler les faits constatés à l'aide des méthodes mitochondriales.

J'ai pu, dans certains cas favorables, distinguer, sur le vivant, le chondriome du mycélium de l'*Endomyces Magnusii* [**152**, **154**, **175**]; celui-ci apparaît surtout sous forme de chondriocontes, disposés le long des articles, entremêlés à quelques rares mitochondries en forme de grains et de bâtonnets. On peut arriver à colorer vitalement d'une manière diffuse le chondriome, en faisant séjourner pendant une heure environ le Champignon dans une solution très diluée de violet de Dahlia. Une double coloration vitale m'a permis d'obtenir à la fois une coloration du système vacuolaire par le rouge neutre et du chondriome par le violet de Dahlia, et j'ai pu ainsi constater que la métachromatine se forme directement dans les vacuoles, sans que le chondriome participe à cette élaboration [**154**, **175**].

D'autre part, en examinant le Champignon dans le réactif iodo-ioduré, j'ai pu m'assurer que le chondriome n'a pas de rôle direct dans la production du glycogène,

qui apparaît directement dans le cytoplasme, à l'état de plages, autour des vacuoles, et peut même se diffuser dans le suc vacuolaire où il se précipite sous forme de grains [**175**]. On ne constate pas non plus de relations entre le chondriome et les globules d'huile qui se forment abondamment dans le mycélium ; ceux-ci naissent directement dans le cytoplasme à l'état de petits grains qui se fusionnent ensuite et forment de gros globules [**154** et **175**].

Un *Saprolegnia* [**156, 161, 164**] trouvé par hasard sur des cadavres de Mouches m'a offert un objet d'étude vitale très remarquable, aussi favorable que les cellules épidermiques de *Tulipa* et d'*Iris* (voir p. 69). Le chondriome y est constitué par des grains, mais surtout par de longs chondriocontes, parfois bifurqués. Ces chondriocontes peuvent s'altérer au cours des observations vitales et se transformer en grosses vésicules (fig. 34).

Depuis mes premières recherches, la présence du chondriome a été confirmée, dans la plupart des Champignons, par Rudolph *(Achlya)*, Janssens, Van de Putte et Helsmortel *(Pustularia vesiculosa* et Levures), Lewitsky (Péronosporacées), Beauverie et M[e] Moreau (Urédinées), Beauverie *(Psalliota campestris)*, F. Moreau (Mucorinées), Cowdry (Myxomycètes).

C. — Mitochondries et symbiotes [140].

Diverses recherches récentes avaient orienté, il y a quelques années, la question des mitochondries dans une voie nouvelle : on avait pensé, en raison de leurs formes bactériennes si caractéristiques, que les mitochondries représentaient des Bactéries vivant en symbiose dans le cytoplasme (Galippe, Portier, Eriksson). A la suite de ses remarquables recherches sur les symbiotes, M. Portier a soutenu une théorie fort intéressante, qui consiste à admettre la présence, dans toute cellule, de Bactéries symbiotes jouant un rôle indispensable dans l'assimilation. Ces symbiotes correspondraient, selon M. Portier, aux mitochondries. Je n'ai jamais partagé cette opinion, qui, d'ailleurs, aujourd'hui, semble abandonnée, et j'ai indiqué les raisons qui montrent que les mitochondries ne sont pas des symbiotes.

Les mitochondries ont évidemment une grande ressemblance de formes avec les Bactéries et partagent avec elles le pouvoir de se diviser, mais ce pouvoir leur est commun avec les centrosomes et les chromosomes, et cette ressemblance de formes entre les mitochondries et les Bactéries n'aurait de valeur que si elle était accompagnée d'une ressemblance physico-chimique. Or, les mitochondries ont une sensibilité extrême vis-à-vis des actions osmotiques, de la température, de l'alcool et de l'acide acétique, que n'ont pas les Bactéries. D'autre part, le fait que les Bactéries symbiotes qui se rencontrent dans certaines cellules se colorent par les méthodes mitochondriales ne prouve rien ; ces méthodes ne sont pas, en effet, spécifiques, et les caractères de fixation sont beaucoup plus importants pour caractériser les mitochondries, que la coloration. Des objections du même ordre ont été faites par MM. Regaud, Laguesse et Auguste Lumière.

II. — APPAREIL VACUOLAIRE

A. — Caractères et évolution de l'appareil vacuolaire.

a) *Evolution de l'appareil vacuolaire* [**135, 136, 146, 150, 155, 157, 159, 165, 168, 169, 170, 173, 175, 178, 179, 182, 183, 184**]. — Mes travaux les plus récents ont contribué pour une très large part à la connaissance de l'évolution de l'appareil vacuolaire de la cellule végétale. L'évolution des vacuoles était restée à peu près inconnue jusqu'à ces dernières années où les belles recherches de M. Dangeard ont éclairé cette question d'un jour nouveau.

J'ai, pour la première fois (1913) [**94**], fait connaître le mode de formation de l'anthocyane. L'observation vitale des jeunes feuilles de Rosier m'a permis de démontrer que ce pigment apparaît sous forme d'éléments morphologiquement semblables à des mitochondries. J'avais donc cru pouvoir admettre, au début de mes recherches (alors que l'évolution du système vacuolaire était encore inconnue), que les pigments anthocyaniques ont une origine mitochondriale : les mitochondries se seraient imprégnées d'anthocyane pour ensuite se transformer en vacuoles remplies de ce pigment. Cette conclusion paraissait d'autant plus légitime que les autres pigments végétaux naissent dans des mitochondries et que les travaux de Prenant venaient de montrer que les pigments animaux se forment de la même manière. Les préparations vitales de feuilles de Rosier que j'avais montrées au Congres des Anatomistes (Lausanne, 1913) avaient d'ailleurs entraîné la conviction de tous les cytologistes qui s'y trouvaient. Le mode de formation de l'anthocyane est général et a été retrouvé, depuis, par un grand nombre d'auteurs dans les Végétaux les plus divers. Il est donc indiscutable que l'anthocyane présente à son origine des formes morphologiquement semblables à des mitochondries. Mais les recherches ultérieures ont démontré que mon interprétation n'était pas exacte.

Les travaux de Pensa ont fait voir, en effet, que les figures mitochondriales de l'anthocyane ne se conservent pas par les méthodes mitochondriales et ne paraissent par conséquent pas être des mitochondries. Les études de Dangeard ont démontré d'autre part que le système vacuolaire, dans les cellules jeunes, apparaît toujours, après coloration vitale, sous formes d'éléments semblables à des mitochondries, et que le mode de formation de l'anthocyane n'est qu'un cas particulier du processus général de formation des vacuoles.

Par des observations sur les Champignons, à l'aide de colorants vitaux (bleu de Crésyl), Dangeard a démontré que la métachromatine se trouve ordinairement à l'état de solution colloïdale dans les vacuoles et que les corpuscules métachromatiques sont le plus souvent le résultat d'une précipitation de cette solution sous l'influence des colorants vitaux ou des fixateurs. Or, en observant à l'aide de coloration vitale l'origine des vacuoles dans les jeunes filaments, Dangeard a vu que celles-ci apparaissent d'abord sous forme d'éléments semblables aux mitochondries, constitués par de la métachro-

matine en solution très concentrée. Ces éléments ensuite se gonflent par absorption d'eau, s'anastomosent en réseaux qui finalement, par fusionnement, arrivent à constituer de grosses vacuoles renfermant de la métachromatine en solution très diluée.

En observant par le même procédé l'apparition des vacuoles dans diverses Phanérogames, l'auteur a constaté que les vacuoles renferment également de la métachromatine et apparaissent de la même manière que dans les Champignons.

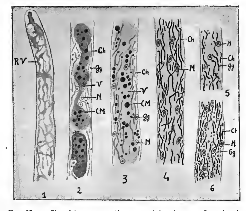


Fig. 37. — Chondriome et système vacuolaire dans un *Saprolegnia*.

1, Extrémité de filament observé sur le vivant avec coloration par le rouge neutre. On y voit le système vacuolaire coloré et affectant la forme d'un réseau. Pour ne pas compliquer le dessin, on n'a figuré ni le chondriome, ni les noyaux. — 2, Filament un peu plus âgé, coloré vitalement par le rouge neutre. Le réseau vacuolaire tend à se transformer en un canal (V). Son contenu est tout entier coloré et montre en outre des corpuscules (CM) plus fortement colorés. Le chondriome n'est pas coloré, mais se distingue nettement (Ch) : N, noyaux; Gg, granules lipoides. — 3, Filament plus âgé : le système vacuolaire est transformé en un large canal central (V). — 4, Filament traité par la méthode de Regaud. Les grains lipoides ne sont pas colorés. — 5 et 6, Filaments traités par la méthode de Meves-Kull; les grains lipoïdes (Gg) sont brunis par l'acide osmique.

La métachromatine serait donc présente dans les vacuoles de toute cellule et jouerait, selon Dangeard, un rôle essentiel dans la physiologie cellulaire : elle agirait comme électivine et osmotine. Dans les cellules qui renferment de l'anthocyane, ce pigment apparaîtrait directement dans de jeunes vacuoles de formes mitochondriales ou à un stade quelconque de l'évolution des vacuoles; elle serait formée dans le cytoplasme, puis fixée par la métachromatine comme les colorants vitaux.

De ces faits, Dangeard conclut que ce qui a été décrit dans la cellule animale et dans les Champignons sous le nom de chondriome correspond à certaines phases du système vacuolaire rempli de métachromatine. Il admet que la métachromatine offre

les caractères microchimiques des mitochondries et se colore par les techniques mitochondriales. Le chondriome n'aurait donc aucune relation avec les plastes.

Mes recherches, effectuées sur les Champignons et sur les Phanérogames, ont

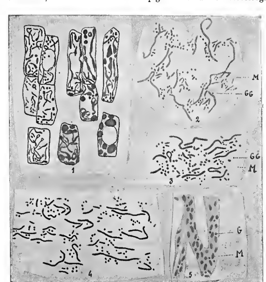


Fig. 38.

1, Cellules d'une très jeune feuille d'*Iris germanica*, colorées vitalement par le rouge neutre et montrant tous les stades de la formation des vacuoles : celles-ci apparaissent d'abord sous forme de filaments et de grains colorés par le rouge neutre, puis ces éléments grossissent et s'anastomosent en réseau ; le réseau se décompose ensuite en vacuoles arrondies. — 2, Portion du cytoplasme d'une cellule de feuille d'*Iris germanica* adulte avec mitochondries (M) et granules lipoïdes (GG). — 3, Même cytoplasme traité par la méthode de Meves-Kull : les granules lipoïdes sont brunis par l'acide osmique. — 4, Même cytoplasme traité par la méthode de Regaud. Le chondriome est seul coloré et les grains lipoïdes ne sont pas différenciés. — 5, Portion de cytoplasme d'un Protozoaire *(Loxodes rostrum)*, d'après Fauré-Frémiet, montrant sur le vivant ses mitochondries (M) et des grains réfringents (G), probablement identiques aux grains lipoïdes des Végétaux.

vérifié les observations de Dangeard en ce qui concerne l'évolution du système vacuolaire. Mais elles ont montré que les formes d'allure mitochondriale de l'appareil vacuolaire n'ont absolument rien de commun avec les mitochondries.

Dans les Champignons [**119, 132, 149, 152, 154, 156, 161, 164, 175**], les

corpuscules métachromatiques s'observent bien sur le vivant sans coloration vitale, mais en nombre infiniment moins considérable qu'au moyen de coloration vitale ou après fixation. En observant au microscope la coloration vitale des vacuoles, on constate l'apparition de corpuscules métachromatiques qui se forment sous l'influence du colorant. La métachromatine est donc bien, en général, à l'état de solution colloïdale dans les vacuoles.

En ce qui concerne l'origine des vacuoles, mes observations établissent que, dans la majorité des Champignons, celles-ci apparaissent sous forme de petites vacuoles rondes, remplies de métachromatine, toujours plus grosses que les mitochondries et qui ne ressemblent en rien aux mitochondries. Ces petites vacuoles grossissent, se fusionnent pour constituer de grosses vacuoles. Cependant, dans certains Champignons (Mucorinées, *Saprolegnia)*, les vacuoles offrent à leur origine des formes canaliculaires ou réticulées (fig. 37, 1) qui ressemblent vaguement à des mitochondries. Il n'est cependant pas difficile de les distinguer des mitochondries. Ces vacuoles fixent instantanément et d'une manière intense la majorité des colorants vitaux, tandis que les mitochondries ne se colorent vitalement que par des colorants très spéciaux, et encore très difficilement. Enfin, la métachromatine et le système vacuolaire ne se colorent pas par les méthodes mitochondriales qui donnent de belles différenciations du chondriome. D'ailleurs, j'ai imaginé, comme on vient de le voir plus haut (p. 75), un procédé qui permet de colorer à la fois sur le vivant les mitochondries par le violet de Dahlia et les vacuoles par le rouge neutre.

Dans les Phanérogames, au contraire, les colorations vitales des cellules des méristèmes font presque toujours apparaître des éléments morphologiquement très semblables aux mitochondries [**135, 136, 146, 148, 150, 155, 157, 159, 165, 168, 169, 170, 173, 174, 175, 178, 179, 182, 183, 184**]. Ces éléments, que j'ai désignés sous le nom de *primordia des vacuoles* (fig. 38, 1), se présentent sous forme de filaments onduleux, groupés autour du noyau : ils ont une consistance semi-fluide, et sont formés, le plus souvent, par une substance en solution colloïdale très concentrée qui fixe énergiquement la plupart des colorants vitaux.

Ces éléments absorbent de l'eau, se gonflent, s'anastomosent en réseaux, puis se fusionnent pour constituer de grosses vacuoles très fluides, renfermant toujours la substance douée d'un pouvoir électif pour les colorants vitaux dont elle dérive, mais en solution très diluée. Celle-ci est susceptible de se précipiter sous l'influence des colorants vitaux sous forme de corpuscules vivement colorés et animés de mouvements browniens.

b) *Nature chimique des produits contenus dans les vacuoles* [**136, 148, 150, 155, 157, 159, 165, 168, 169, 170, 173, 174, 178, 182**]. — Cette substance, douée du pouvoir de fixer les colorants vitaux, n'offre en aucun cas, dans les Phanérogames, les caractères histochimiques bien définis de la substance que j'ai caractérisée dans les Champignons et les Algues sous le nom de métachromatine (v. p. 4). Elle est détruite par l'alcool qui conserve la métachromatine, et, une fois fixée par le formol, ne présente

aucune coloration métachromatique par les teintures bleues d'aniline. Dans beaucoup de cas, cette substance offre les caractères microchimiques des composés phénoliques, et peut alors être incolore ou à l'état de pigments anthocyaniques. Mais, dans d'autres cas, elle n'a pas ces caractères; peut-être représente-t-elle alors une protéine soluble dans l'alcool.

Mes recherches ont démontré que les primordia des vacuoles diffèrent essentiellement des mitochondries par leurs caractères histochimiques. Ils fixent la plupart des colorants vitaux qui ne colorent pas les mitochondries et ne se teignent pas électivement par les méthodes mitochondriales.

Sur une coupe traitée par les méthodes mitochondriales, ces primordia des vacuoles apparaissent très mal conservés, semblent gonflés et parfois fusionnés par le fixateur, et présentent l'aspect de canalicules le plus souvent incolores, tout à fait semblables aux formations énigmatiques décrites dans la cellule animale sous le nom de canalicules de Holmgren. Toutefois, dans certains cas, on constate, dans les canalicules des cellules les plus jeunes, des filaments ou des grains sidérophiles, qui résultent de la précipitation du contenu colloïdal des jeunes vacuoles sous l'influence du fixateur, mais ces éléments toujours intravacuolaires ne peuvent en aucun cas être confondus avec les éléments du chondriome (fig. 39). Ils ne se rencontrent, d'ailleurs, que dans une phase très limitée du développement des cellules et leur coloration est très inconstante et nullement élective.

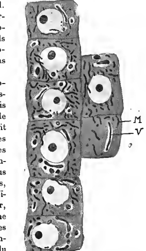


Fig. 39.

Cellules du méristème d'une racine de Ricin montrant à la fois les mitochondries (M) et les formes initiales du système vacuolaire (V) avec un contenu contracté au milieu des vacuoles et coloré comme les mitochondries (M). (Grossissement : 1.500. Méthode de Regaud.)

De toute cette série de faits apportés par mes recherches, vérifiés, d'ailleurs, par les travaux d'Alarado, on doit donc conclure que les formes pseudo-mitochondriales du système vacuolaire n'ont rien de commun avec le chondriome. Ces formes passagères semblent dues à des conditions physiques de la cellule qui influent en même temps sur la forme des mitochondries lesquelles paraissent avoir une consistance semi-fluide semblable à celle des primordia des vacuoles. Elles paraissent correspondre, au contraire, aux formations connues dans la cellule animale sous le nom de *canalicules de Holmgren* et peut-être aussi, en partie, à *l'appareil réticulaire de Golgi*, formations que l'on met en évidence par des procédés spéciaux, mais qui ne se colorent pas par des méthodes mitochondriales et qu'on n'a jamais confondues avec les mitochondries. Par là, mes recherches ouvrent peut-être des horizons nouveaux pour la Cytologie

générale, et laissent préjuger que les canalicules de Holmgren et l'appareil réticulaire de Golgi dont on ignore le rôle, correspondraient aussi dans la cellule animale à certaines phases du système vacuolaire.

c) *Origine des vacuoles* [**184**]. — Ces faits, par contre, ne résolvent pas complètement la question de l'origine des vacuoles. On sait que, pour des raisons théoriques, de Vries, Went ont admis que les vacuoles, comme les plastes, sont des organites permanents du cytoplasme et incapables de se former autrement que par division. C'est pourquoi de Vries leur a donné le nom de *tonoplastes* et van Tieghem celui d'*hydroleucites*.

Certains faits observés pendant la plasmolyse me font penser que les grosses vacuoles très fluides sont susceptibles, dans certaines conditions, de se morceler et de reprendre la consistance semi-fluide et l'allure pseudo-mitochondriale. Il y aurait donc là une certaine réversibilité. D'autre part, mes dernières recherches ont montré que les petits grains d'aleurone des cellules les moins différenciées de l'embryon sont susceptibles de prendre, pendant la germination, des formes pseudo-mitochondriales, et de se transmettre sous cette forme d'une cellule à l'autre pendant la mitose, ce qui vérifie les observations récentes de Pierre Dangeard. Mais cela n'implique nullement que les vacuoles, qui ne présentent pas les caractères d'organites de la cellule, ne soient pas capables de naître *de novo* par sécrétion par le cytoplasme de substances douées de la propriété d'absorber de l'eau. Ce que l'on peut affirmer, en tout cas, c'est qu'il n'y a pas de cellules végétales sans vacuoles [**184**].

B. — Origine des pigments anthocyaniques.

[94, 102, 103, 104, 108, 115, 116, 136, 150, 175, 178]

La question de l'origine de l'anthocyane a été longtemps très discutée. La majorité des auteurs ont admis que les pigments anthocyaniques dérivent de la transformation par oxydation de chromogènes préformés dans les vacuoles. Graffe, au contraire, pense que l'anthocyane apparaît directement sous forme de pigments. Pour R. Combes, enfin, les pigments anthocyaniques peuvent se former directement ou indirectement, selon les circonstances : dans ce dernier cas, ils résultent de la transformation de composés phénoliques incolores dont la présence est extrêmement fréquente dans les cellules végétales, mais par réduction et non par oxydation. Combes a pu extraire le composé phénolique incolore et a obtenu *in vitro* sa transformation par réduction en pigment anthocyanique. Inversement, il a réussi à transformer l'anthocyane en composé incolore, par oxydation. Les travaux de Willstætter ont ensuite vérifié ces faits.

Mes recherches cytologiques sur la formation de l'anthocyane dans un grand nombre de feuilles et de fleurs m'ont amené au même résultat que R. Combes,

relativement à l'origine de l'anthocyane [**94, 104, 108, 115, 116, 175**]. Elles ont établi que l'anthocyane peut apparaître directement au sein des primordia des vacuoles ou bien résulter de la transformation, à un stade quelconque du développement du système vacuolaire, de composés phénoliques incolores, présentant des réactions très voisines de celles des tanins et formés dans les primordia des vacuoles. Enfin, elles démontrent l'extrême fréquence des composés phénoliques incolores dans les cellules végétales.

C. — Action des milieux hypotoniques et hypertoniques sur les cellules. Plasmolyse.

[**122, 126, 131, 133, 146**]

Les cellules épidermiques des fleurs de Tulipe et d'Iris, si favorables aux observations vitales, m'ont fourni l'occasion d'étudier l'action des milieux hypertoniques et hypotoniques sur les éléments constitutifs de la cellule, en particulier sur les vacuoles.

L'action des solutions hypertoniques présente surtout un intérêt spécial, car, depuis les belles recherches de de Vries, la plasmolyse n'a guère été étudiée et le savant botaniste s'est borné à l'observation de la vacuole, négligeant les détails de cytologie fine.

La plasmolyse, provoquée par des solutions, à divers degrés de concentration, de saccharose ou de sel marin, est facile à observer dans les cellules épidermiques des pétales des variétés jaune et rouge de Tulipe, parce que la vacuole est très distincte, grâce au pigment anthocyanique rouge qu'elle renferme, et parce que les chondriocontes se détachent nettement du cytoplasme par leur teinte jaune.

Une première phase consiste en une rétraction partielle de la masse cytoplasmique ou protoplaste, qui se détache de place en place de la membrane cellulosique. Celle-ci s'achève et la deuxième phase correspond à la contraction complète du protoplaste au milieu de la cavité cellulaire, sous forme d'une masse arrondie. Le protoplaste offre toujours un contour parfaitement régulier, comme s'il était limité par une paroi périplasmique. Il reste cependant rattaché à la membrane cellulosique par de nombreux filaments, minces et dichotomisés, décrits par quelques auteurs comme des communications protoplasmiques et que je considère, avec Chodat, comme de simples adhérences avec la membrane cellulosique, dues à la viscosité du cytoplasme. Cependant, un certain nombre de ces filaments plus gros sont nettement en relation avec les ponctuations de la membrane et paraissent représenter des communications protoplasmiques.

Parfois la vacuole, en se contractant, se fragmente en petites vacuoles qui prennent des formes filamenteuses semblables à celles des primordia des vacuoles.

Le cytoplasme est le siège d'une série de phénomènes qui se traduisent d'abord par une augmentation de vitesse des courants, puis par l'apparition de nombreuses figures myéliniques, phénomènes que l'on observe aussi en milieu hypotonique ; puis il

prend un aspect alvéolaire très caractéristique déjà décrit par Matruchot et Molliard. Dans cette phase, la cellule est encore vivante; elle est imperméable à l'éosine et reprend son aspect normal quand on la place dans un liquide isotonique.

Au bout d'un certain temps, la mort survient par suite d'une déshydratation plus complète du cytoplasme, et la cellule entre dans une troisième phase caractérisée par le fait que le cytoplasme devient perméable à l'éosine. En même temps, il semble se rehydrater. Il prend un aspect aqueux et homogène dans lequel les mitochondries, restées jusqu'à ce moment intactes, apparaissent animées de mouvements browniens et se transforment en grosses vésicules. Bientôt, le cytoplasme se distend et se dissémine dans la cavité cellulaire sous forme d'un précipité granulo-alvéolaire. La vacuole apparaît alors en quelque sorte isolée du cytoplasme désorganisé, en conservant son contour parfaitement régulier (isolement des vacuoles obtenu par de Vries et Tswett). Dans une phase ultérieure, cette vacuole disparaît à son tour. Le noyau, selon les cas, se gonfle et éclate, ou se contracte fortement.

La série des phénomènes peut s'expliquer comme il suit :

Dans les deux premières phases, il se produit une exosmose déterminant la contraction de la vacuole et du cytoplasme, et, enfin, dans une troisième phase, la déshydratation du cytoplasme s'accentuant, la mort survient. Elle se traduit par une désorganisation de la paroi périplasmique, qui détermine la vésiculation du chondriome, puis la coagulation du cytoplasme et du noyau. La vacuole, plus résistante, finit enfin par se résorber par la désorganisation de sa paroi.

Une série de faits observés ne me paraît pas favorable à l'idée de membranes différenciées du cytoplasme et de la vacuole, au sens de de Vries. J'admets plus volontiers, avec Pfeffer, qu'il s'agit de membranes transitoires dues, en partie à la tension superficielle, en partie à une propriété du cytoplasme de se coaguler au contact de l'eau.

III. — GRANULATIONS LIPOÏDES

[130, 134, 137, 145, 146, 148, 152, 154, 156, 157, 159, 161, 165, 169, 170, 173, 174, 175, 177, 182]

Dans la plupart des cellules végétales, on observe dans le cytoplasme de petits grains osmio-réducteurs, très visibles par suite de leur réfringence fort accusée (microsomes de Dangeard). Ce sont, d'après mes recherches, des grains en général plus petits que les mitochondries granuleuses, dont il est facile de les distinguer par leur vive réfringence et leurs déplacements rapides dus en partie peut-être à des mouvements browniens (fig. 34, 35 et 38, 2 à 5, *gg*). Dans certains cas, ces grains peuvent grossir et prendre l'aspect de gros globules graisseux.

La quantité de ces grains varie beaucoup selon l'état de développement des cellules. Ces granulations, qui se comportent comme des produits du métabolisme cellulaire,

présentent les caractères microchimiques des lipoïdes [**177**] et souvent aussi ceux des graisses neutres. Les méthodes mitochondriales ne les colorent pas.

Mes recherches m'amènent à penser que le cytoplasme est constitué par un mélange d'albuminoïdes et de lipoïdes, et que ces derniers, quand ils se trouvent en excès, sont capables de se séparer sous forme de granulations. La dégénérescence graisseuse ne serait que l'exagération de ce processus normal [**182**].

IV. — STRUCTURE GÉNÉRALE DE LA CELLULE VÉGÉTALE

[**148, 157, 170, 173, 174, 175, 182**]

Mes recherches montrent que le cytoplasme dans la cellule végétale se présente, en général, sous forme d'une substance d'aspect hyalin et homogène, contenant en suspension les éléments constitutifs suivants (fig. 40) :

1° *Les mitochondries*, formations bien déterminées par leurs caractères morphologiques et microchimiques, dont l'ensemble constitue le *chondriome*. Dans la cellule des Végétaux chlorophylliens, le chondriome est double et renferme deux catégories de mitochondries dont l'une seule est affectée à la photosynthèse;

2° *Les vacuoles*, présentant des aspects très variés et renfermant, en solution colloïdale, plus ou moins condensée suivant les phases du développement, des substances de natures diverses (protéine, composés phénoliques, pigments anthocyaniques, métachromatine). Dans certaines phases, les vacuoles, à contenu très condensé, peuvent présenter des aspects mitochondriaux, qui d'ailleurs n'offrent aucun des caractères microchimiques des mitochondries. Il y a lieu de se demander si l'appareil vacuolaire des Végétaux n'est pas l'équivalent des canalicules de Holmgren et de l'appareil réticulaire de Golgi observés dans la cellule animale ;

3° *Des granulations lipoïdes*, produits du métabolisme cellulaire, dont la présence n'est peut-être pas constante.

V. — ORIENTATION DANS LES MÉTHODES CYTOLOGIQUES

[**129, 146**]

Les recherches que je poursuis depuis dix ans sur les constituants morphologiques du cytoplasme me paraissent avoir contribué, non seulement à une connaissance plus exacte de la cellule et, par là, dépasser le domaine de la Botanique, mais encore avoir indiqué des orientations nouvelles dans les méthodes cytologiques.

La Cytologie, science récente, n'a pas toujours été abordée, il faut en convenir,

avec un esprit critique suffisant. Ses méthodes, reposant sur la fixation suivie de coloration de la cellule, sont évidemment critiquables et dangereuses. La fixation, c'est-à-dire la coagulation rapide du protoplasme par divers agents chimiques, ayant pour

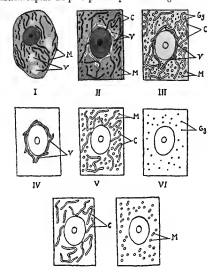


Fig. 40. — Schéma représentant la structure générale de la cellule, d'après mes recherches.

I. Cellule du foie de Grenouille, par la méthode de Regaud : M, mitochondries, V, vacuoles. — II, Cellule épidermique de feuille d'*Iris germanica*, par la même méthode : C, amyloplastes ; M, mitochondries inactives ; V, vacuoles filamenteuses, non colorées. — III, Même cellule, colorée vitalement par le rouge neutre : V, vacuoles filamenteuses, seules colorées ; C, chondriocontes ; M, mitochondries inactives ; Gg, granules lipoïdes. — IV, Même cellule dans laquelle le système vacuolaire est seul représenté. — V, Id., avec le chondriome seul représenté. — VI, Id., avec les granules lipoïdes seuls représentés. — VII, Id., avec les amyloplastes seuls représentés. — VIII, Id., avec les mitochondries inactives seules représentées.

but de mettre en évidence, par une coloration ultérieure, les éléments que l'on ne peut observer sur le vivant, sans tenir compte des altérations inévitables dues à la fixation, ne peut donner aucune certitude sur la réalité des éléments différenciés et risque fort de provoquer les plus graves erreurs. Aussi ne doit-on pas s'étonner que, dès sa naissance, la Cytologie ait été l'objet des légitimes critiques des physiologistes habitués à se placer usr un terrain expérimental plus sûr.

Je crois avoir contribué, par mes recherches, à orienter la Cytologie vers des méthodes précises, aussi exemptes que possible des chances d'erreur, en faisant connaître des cellules très favorables à l'étude vitale, en comparant minutieusement l'aspect que présentent ces cellules sur le vivant et l'aspect qu'elles présentent après fixation; puis, en déterminant par ce procédé l'action des fixateurs sur les cellules et la valeur des résultats qu'elles peuvent donner sur d'autres cellules moins propices à l'observation directe. J'ai, en outre, montré la nécessité qu'il y a, en Cytologie, de ne jamais se localiser dans un domaine restreint et de toujours faire intervenir les données de la Cytologie générale. Les recherches que j'ai faites sur les constituants du cytoplasme font ressortir la nécessité qu'il y a pour chacun d'eux de faire : 1° une analyse aussi précise que possible de leurs caractères morphologiques, physiques et microchimiques ; 2° de suivre leur évolution à tous les stades du développement. Or, il est bien évident qu'il est absolument nécessaire de ne pas observer cette évolution dans un seul groupe, mais dans toute la série végétale, et même de faire de nombreuses incursions dans le domaine de la Cytologie animale. Par ce moyen, il est possible de trouver des groupes où les phénomènes d'aspect plus schématique donneront la solution du problème qui ne saurait être résolu en se bornant à l'étude d'un groupe spécial.

J'ai enfin contribué, aussi largement que possible, depuis mes premières recherches de 1913, à ressusciter la méthode trop négligée de l'observation vitale, en insistant sur l'intérêt qu'elle présente et les résultats importants qu'on peut en tirer. J'ai eu la satisfaction de voir que j'avais été suivi depuis dans cette voie par beaucoup de cytologistes, aussi bien dans le domaine de la cellule végétale que dans celui de la cellule animale.

Par l'emploi judicieux des méthodes de fixation et de coloration rigoureusement contrôlées par l'observation vitale, par une analyse microchimique détaillée des éléments mis en évidence, et par l'étude de leur évolution, c'est-à-dire orientée de plus en plus dans la voie de l'histochimie, je pense que la Cytologie est une science destinée à de rapides progrès et qui constituera bientôt un précieux auxiliaire de la Physiologie générale.

VII. — TRAITÉS. NOTICES. REVUES GÉNÉRALES

Les Levures. Encyclopédie scientifique. Bibliothèque de Botanique cryptogamique, préface du Dr Roux, Directeur de l'Institut Pasteur [**80**].

Je me suis efforcé de répondre dans ce livre au but de l'Encyclopédie scientifique, c'est-à-dire d'exposer méthodiquement l'ensemble de nos connaissances actuelles sur les Levures. L'ouvrage est divisé en deux parties. Dans la première j'expose la morphologie, la sexualité, la physiologie et la phylogénie des Levures, les méthodes de culture, d'isolement et de détermination ; enfin je donne une nouvelle classification des Levures fondée sur celle de Hansen, mais modifiée à la suite de mes propres recherches. Cette classification a été adoptée par la plupart des Traités. La seconde partie est consacrée à la description des espèces.

Je termine ce résumé par une appréciation de M. Pavillard : « Notre littérature mycologique s'est récemment enrichie de deux livres remarquables qui font le plus grand honneur à la Science française: *Les Champignons* de M. Vuillemin et *les Levures* de M. Guilliermond. Très différents par leur allure générale, par leur inspiration didactique et leur objectif particulier, ces deux livres se complètent admirablement et seront bientôt dans toutes les mains. Parmi les multiples problèmes proposés à notre sagacité par le rapprochement critique de ces deux ouvrages, il en est un que les auteurs ont respectivement marqué d'une empreinte toute personnelle et très suggestive : c'est la question de la sexualité, de ses rapports avec l'évolution individuelle des Champignons. » (Pavillard, la Sexualité et l'alternance de génération chez les Champignons, *Revue scientifique*, 1913.)

The Yeasts, by A. Guilliermond, translated and thoroughly revised in collaboration with the original Author, by Fred. W. Tanner [**163**].

Ce livre est la traduction du précédent, mise au courant des acquisitions nouvelles de la science.

Microbiology, a text-Book of microorganism general and applied, edited by Ch. E. Marshall, Churchill, London [**128**].

J'ai participé à la rédaction de ce livre, en écrivant le chapitre I : Elements of microbial Cytology (pages 15 à 33, fig. 2 à 22), les paragraphes: Cytology of Molds,

(Chapitre II, pages 40 à 46, 8 figures), Cytology of Yeasts (chapitre III, pages 61 à 70, 10 figures) et Cytology of Bacteria (chapitre IV, pages 87 à 101, 10 figures).

Tabulæ botanicæ (en collaboration avec MM. Blakeslee, Baur et Jahn [**91**]).

Tableaux de botanique à l'usage des cours de l'Enseignement supérieur, accompagnés d'explications traduites en allemand, anglais et français. Ces tableaux sont au nombre de 17, et sont consacrés aux Myxobactéries, aux Myxomycètes, aux Mucorinées, aux Levures et à l'anatomie végétale.

La traduction française du texte a été faite par moi, ainsi que le tableau consacré aux Levures.

La Question de la sexualité chez les Ascomycètes et les récents travaux (1898-1906) parus sur ce groupe de Champignons [**44**].

Analyse des travaux de morphologie, de cytologie et de taxinomie parus sur ce groupe de Champignons, avec mise au point de la question si controversée de la sexualité des Ascomycètes.

Emile Chr. Hansen, Notice nécrologique (*Revue scientifique*, pages 761-763, 1909) [**59**].

Je résume l'œuvre de E. Chr. Hansen, mort le 29 août 1909, qui a été l'un des biologistes les plus remarquables de notre époque. Hansen a continué l'œuvre de Pasteur et s'est attaché d'abord à perfectionner les méthodes de culture et d'isolement des Levures et a institué une technique précieuse pour la caractérisation des espèces. A signaler aussi ses remarquables études sur la variation des espèces et les mutations chez les Levures.

La Sexualité chez les Champignons [**62**] (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*).

« Depuis une quinzaine d'années des études cytologiques ont révélé chez les Champignons une variété extrême de processus se rattachant à la sexualité. Guilliermond, dont on connaît les travaux personnels sur les Levures, donne ici une revue très documentée de tous ces faits classés sous des rubriques correspondant à celle qu'Hartmann a adoptée pour les Protistes : amphimixie, automixie, apomixie.

« Si les interprétations théoriques sont encore sujettes à discussion, il y a là en tout cas un ensemble considérable de faits particulièrement intéressants au point de vue de la conception générale de la réduction chromatique et de la fécondation. » (Analyse de Ch. Pérez.)

Les Progrès de la cytologie des Champignons, 1913 [**97**].

J'analyse l'ensemble des travaux parus sur la cytologie des Champignons. Grâce à une série de travaux poursuivis dans ces dernières années, on connaît actuellement la cytologie de tous les groupes de Champignons.

La plupart des recherches ont été orientées du côté de la sexualité et ont donné lieu à d'importantes découvertes. Elles ont montré l'existence de phénomènes sexuels dans tous les groupes de Champignons, et, grâce à l'impulsion donnée par les travaux de Dangeard et de Harper, la sexualité est maintenant démontrée chez les Champignons supérieurs qui avaient été longtemps considérés comme dépourvus de toutes manifestations sexuelles. Il reste cependant beaucoup de points à observer en ce qui concerne la sexualité des Ascomycètes. Enfin, les travaux sur le *Basidiobolus* et sur les Protoascées ont montré la fréquence de l'automixie.

J'ai participé d'une manière plus ou moins régulière, par des analyses critiques [**185**], à la rédaction d'un certain nombre de périodiques scientifiques. Je mentionnerai le *Bulletin de l'Institut Pasteur*, la *Revue Générale de Botanique* et le *Centralblatt für Bakteriologie*.

LISTE GÉNÉRALE CHRONOLOGIQUE

DES PUBLICATIONS DE M. ALEXANDRE GUILLIERMOND

1900

1. Etude sur le développement et la structure de l'*Oidium lactis* (*Rev. Gén. Bot.*, t. XII, p. 465 à 470, 11 figures de texte).

1901

2. Recherches sur la structure de quelques Champignons inférieurs (*C. R. Acad. Sc.*, 21 janvier, t. CXXXII, p. 175).
3. Recherches histologiques sur la sporulation des Levures (*C. R. Acad. Sc.*, 13 mai, t. CXXXII, p. 1194).
4. Recherches histologiques sur la sporulation des Schizosaccharomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, 22 juillet, t. CXXXIII, p. 1252).
5. Considérations sur la sexualité de certaines Levures (*C. R. Acad. Sc.*, 23 déc.).

1902

6. Recherches cytologiques sur les Levures et quelques moisissures à formes-levures (Thèse de Doctorat ès Sc. de la Sorbonne, 29 pages, 8 figures de texte et 12 planches).
7. Recherches cytologiques sur les Levures (*Rev. Gén. Bot.*, t. XV, p. 49 à 107, 7 figures de texte et 9 planches).
8. Sur la présence des corpuscules métachromatiques dans les Bactéries (*Lyon Médical*, 13 juillet, 4 pages).
9. Observations cytologiques sur la germination des spores du *Saccharomyces Ludwigii* (*C. R. Acad. Sc.*, 27 octobre, t. CXXXV, p. 708).

1903

10. Recherches sur la germination des spores dans le *Saccharomyces Ludwigii* [Hansen] *(Bull. Soc. Mycol. de France*, t. XIX, 5 figures de texte et 1 planche).

11. Remarques sur la copulation du *Schizosaccharomyces mellacei (Ann. Soc. Bot. de Lyon*, avril, 7 pages, 5 figures).

12. Etude sur la structure du *Botrytis cinerea (Centralblatt f. Bakter.*, t. X, p. 275 à 320, 14 figures de texte). En collaboration avec M. J. Beauverie.

13. Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes *(C. R. Acad. Sc.*, 26 janvier, t. CXXXVI, p. 253).

14. Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons *(Ann. Mycol.*, t. I, p. 202 à 215, 2 planches).

15. Nouvelles recherches sur l'épiplasme des Ascomycètes *(C. R. Acad. Sc.*, 15 juin, t. CXXXVI, p. 1487).

16. Contribution à l'étude cytologique des Ascomycètes *(C. R. Acad. Sc.*, 30 nov., t. CXXXVII, p. 938).

1904

17. Sur le noyau de la Levure *(Ann. Mycol.*, t. II, p. 185 à 189, 1 figure de texte).

18. Sur la karyokinèse de *Peziza rutilans (C. R. Soc. Biol.*, 5 mars, t. LVI, p. 412).

19. Contribution à l'étude de la formation des asques et de l'épiplasme des Ascomycètes *(Rev. Gén. Bot.*, t. XVI, p. 50 à 77, 3 figures de texte et 2 planches).

20. Recherches sur la karyokinèse des Ascomycètes *(Rev. Gén. Bot.*, t. XVI, p. 129 à 134, 2 planches).

21. Remarques sur la cytologie des Ascomycètes *(C. R. Soc. Biol.*, 23 juillet, t. LVII, p. 208).

22. Recherches sur la germination des spores chez quelques Levures *(C. R. Acad. Sc.*, 5 décembre, t. CXXXIX, p. 988).

1905

23. La Morphologie et la Cytologie des Levures *(Bull. Inst. Pasteur*, 11 mars, t. III, 19 pages, 21 figures de texte).

24. Sur le nombre des chromosomes chez les Ascomycètes *(C. R. Soc. Biol.*, 11 février, t. LVIII, p. 273).

25. Remarques sur la karyokinèse des Ascomycètes *(Ann. Mycol.*, t. III, p. 343 à 361, 3 planches).

26. A propos de la communication de M. Behring au Congrès de la Tuberculose *(Lyon Médical*, 23 octobre, 6 pages).

27. Recherches sur la germination des spores et la conjugaison chez les Levures *(Rev. Gén. Bot.*, t. XVII, p. 337 à 377, 10 figures de texte et 4 planches).
28. Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées *(C. R. Acad. Sc.*, 28 août, t. CXLI, p. 427).
29. L'Appareil chromidial des Cyanophycées et sa division *(C. R. Soc. Biol.*, 16 déc., t. LIX, p. 639).
30. Sur les grains de sécrétion des Cyanophycées *(C. R. Soc. Biol.*, 16 décembre, t. LIX p. 641).

1906

31. Les Corpuscules métachromatiques ou grains de volutine *(Bull. Inst. Pasteur*, 15 mars, t. IV, 14 pages, 8 figures de texte).
32. Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées *(Rev. Gén. Bot.*, t. XVIII, p. 392 à 428, 4 figures de texte et 3 planches).
33. Note préliminaire sur les globoïdes et certaines granulations des graines, ressemblant par quelques-unes de leurs propriétés aux corpuscules métachromatiques *(C. R. Acad. Sc.*, 9 avril, t. CXLII, p. 897). En collaboration avec M. Beauverie.
34. Contribution à l'étude cytologique des Bactéries *(C. R. Acad. Sc.*, 5 juin, t. CXLII, p. 1287).
35. A propos de l'origine des Levures *(C. R. Soc. Biol.*, t. LX, p. 316).
36. Quelques faits relatifs à la cytologie des graines de Graminées lors de la germination *(C. R. Ass. Fr. Av. Sc., Congrès de Lyon*, p. 391 à 395).
37. Observations cytologiques sur la germination des graines de Graminées *(C. R. Acad. Sc.*, 26 novembre, t. CXLIII, p. 834).

1907

38. La Cytologie des Bactéries *(Bull. Inst. Pasteur*, 30 avril, t. IV, 22 pages, 9 figures de texte).
39. L'Origine des Levures *(Ann. Mycol.*, t. V, 23 figures de texte, p. 50 à 69).
40. Remarques sur la structure des Bacilles endosporés *(C. R. Soc. Biol.*, 19 janvier, t. LXII, p. 78, 1 figure de texte).
41. Sur les grains d'aleurone des Graminées *(C. R. Soc. Biol.*, 27 juillet, t. LXIII, p. 216).
42. Nouvelles recherches sur la cytologie des graines de Graminées *(C. R. Acad. Sc.*, 22 juillet, t. CXLV, p. 272).
43. Remarques sur la structure du grain d'aleurone des Graminées *(C. R. Acad. Sc.*, 4 novembre, t. CXLV, p 768).

1908

44. La Question de la sexualité chez les Ascomycètes et les récents travaux (1898-1906) parus sur ce groupe de Champignons (*Rev. Gén. Bot.*, 1908, t. XX, p. 32 à 94, 81 figures de texte).
45. Caractères histochimiques des granulations des Mastzellen et rapport de ces corps avec la volutine des Protistes (*C. R. Soc. Biol.*, 28 février, t. LXIV, p. 307). En collaboration avec le Dr Mawas.
46. Caractères histochimiques des globoïdes de l'aleurone (*C. R. Soc. Biol.*, 21 mars, t. LXIV, p. 482). En collaboration avec M. Beauverie.
47. Quelques remarques sur les globoïdes des grains d'aleurone. Réponse à MM. Chifflot et Kimpflin (*C. R. Soc. Biol.*, 27 juin, t. LXIV, p. 1143).
48. Sur le développement du *Glœosporium nervisequum* (*C. R. Acad. Sc.*, 30 mars, t. CXLVI, p. 704).
49. Recherches cytologiques sur la germination des graines de quelques Graminées et contribution à l'étude des grains d'aleurone (*Arch. d'Anat. microsc.*, août, t. X, 13 figures de texte et 4 planches, p. 142 à 226).
50. Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endosporés (*Arch. f. Protistenk.*, t. XII, 5 figures de texte et 3 planches, p. 9 à 43).
51. Contribution à l'étude cytologique des Endomyces : *Saccharomycopsis capsularis* et *Endomyces fibuliger* (*C. R. Acad. Sc.*, 14 décembre, t. CXLVII, p. 1329).
52. Recherches sur le développement du *Glœosporium nervisequum* (*Gnomonia veneta*) et sa prétendue transformation en Levures (*Rev. Gén. Bot.*, t. XX, p. 324 à 385, 10 figures de texte et 6 planches).

1909

53. Sur la reproduction sexuelle de l'*Endomyces Magnusii* (Ludwig) (*C. R. Acad. Sc.*, 5 avril, t. CXLVIII, p. 941).
54. Quelques remarques sur l'*Eremascus fertilis* (Stoppell) et sur ses rapports avec l'*Endomyces fibuliger* (Lindner) (*C. R. Soc. Biol.*, 5 juin, t. LXVI, p. 925).
55. Sur la phylogénèse des Levures (*C. R. Soc. Biol.*, 19 juin, t. LXVI, p. 998).
56. Remarques critiques sur différentes publications parues sur la cytologie des Levures et quelques observations nouvelles sur la structure de ces Champignons (*Centralblatt für Bakteriologie*, t. XXVI, 6 figures de texte, p. 578 à 589).
57. Remarques sur la phylogénèse des Levures. A propos des publications récentes de MM. Klöcker et Dombrowski sur les *Endomyces* (*Centralblatt für Bakteriologie*, t. XXIV, p. 480 à 482).
58. Remarques sur l'évolution nucléaire et les mitoses de l'asque chez les Ascomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, 2 août, t. CXLIX, p. 350).

59. Emile Chr. Hansen, Nécrologie *(Rev. Scient.*, 11 décembre, n° 24, p. 761 à 763).
60. Recherches cytologiques et taxinomiques sur les Endomycétées *(Rev. Gén. Bot.*, t. XXI, p. 353 à 401, 33 figures de texte et 6 planches).
61. Observations sur la cytologie d'un Bacille *(C. R. Soc. Biol.*, 10 juillet, t. LXVII, p. 102, 1 figure de texte).

1910

62. La Sexualité chez les Champignons *(Bul. Sc. France et Belgique*, t. XLIV, p. 110 à 196, 41 figures de texte).
63. Quelques remarques sur la copulation des Levures *(Ann. Mycol.*, t. VIII, p. 288 à 297, 10 figures de texte).
64. A propos des corpuscules métachromatiques ou des grains de volutine *(Arch. für Protistenk.*, t. XIX, p. 269 à 309, 7 figures de texte).
65. A propos de la structure des Bacilles endosporés. Réponse à M. E.-M. Mencl *(Arch. für Protistenk.*, t. XIX, p. 1 à 18).
66. Nouvelles observations sur la cytologie des Levures *(C. R. Acad. Sc.*, 29 mars, t. CL, p. 835).
67. Remarques sur le développement de l'*Endomyces fibuliger* (Lindner) *(C. R. Soc. Biol.*, 19 février, t. LXVIII, p 318).
68. Sur un curieux exemple de parthénogénèse observé dans une Levure *(C. R. Soc. Biol.*, 26 février, t. LXVIII, p. 363, 1 figure de texte).

1911

69. Sur la reproduction du *Debaryomyces globosus* et sur quelques phénomènes de rétrogradation de la sexualité observés chez les Levures *(C. R. Acad. Sc.*, 20 février, t. CLII, p. 448).
70. Sur la régression de la sexualité chez les Levures *(C. R. Soc. Biol.*, 25 février, t. LXX, p. 277, 1 figure de texte).
71. Sur un exemple de copulation hétérogamique observé chez une Levure *(C. R. Soc. Biol.*, 18 mars, t. LXX, p. 442, 1 figure de texte).
72. Aperçu sur l'évolution nucléaire des Ascomycètes et nouvelles observations sur les mitoses des asques *(Rev. Gén. Bot.*, t. XXIII, p. 89 à 120, 8 figures de texte et 2 planches).
73. Sur les mitochondries des cellules végétales *(C. R. Acad. Sc.*, 17 juillet, t. CLIII, p. 199, 1 figure de texte).
74. Sur la formation des chloroleucites aux dépens des mitochondries *(C. R. Acad. Sc.*, 24 juillet, t. CLIII, p. 290, 1 figure de texte).
75. Sur l'origine des leucoplastes et sur les processus cytologiques de l'élaboration de l'amidon dans le tubercule de Pomme de terre *(C. R. Acad. Sc.*, 26 décembre, t. CLIII, p. 1492).

76. Sur une Levure nouvelle isolée des crachats humains au cours d'un cancer secondaire du poumon *(C. R. Soc. Biol.*, t. LXX, p. 952).

77. Le Développement et la Phylogénie des Levures *(Rev. Gén. Sc. pures et appliquées*, 15 août, 11 pages, 28 figures de texte).

78. Die geschlechtliche Vermehrung der Hefepilze *(Mikrokosmos*, t. V, p. 101 à 106, 9 figures de texte).

79. Die Stammesgeschichte der Hefepilze *(Mikrokosmos*, t. V, p. 121 à 122, 3 figures de texte).

1912

80. *Les Levures*, Encyclopédie scientifique, publiée sous la direction du Dr Toulouse. Bibliothèque de Botanique Cryptogamique, directeur, L. Mangin. Préface du Dr E. Roux, 565 pages, 163 figures de texte, Octave Doin et fils, édit., Paris, 1911.

81. Nouvelles remarques sur l'origine des chloroleucites *(C. R. Soc. Biol.*, 20 janvier, t. LXXII, p. 86).

82. Sur les leucoplastes de *Phajus grandifolius* et leur identification avec les mitochondries *(C. R. Acad. Sc.*, 29 janvier, t. CLIV, p. 186).

83. Quelques remarques nouvelles sur le mode de formation de l'amidon dans la cellule végétale *(C. R. Soc. Biol.*, 17 février, t. LXXII, p. 276, 1 figure de texte).

84. Sur le mode de formation des chloroleucites dans les bourgeons des plantes adultes *(C. R. Soc. Biol.*, 16 mars, t. LXXII, p. 459, 7 planches).

85. Sur les mitochondries des organes sexuels des Végétaux *(C. R. Acad. Sc.*, 1er avril, t. CLIV, p. 888).

86. Mitochondries et plastes végétaux *(C. R. Soc. Biol.*, 6 juillet, t. LXXIII, p. 7).

87. Sur les différents modes de la formation des leucoplastes *(C. R. Soc. Biol.*, 13 juillet, t. LXXIII, p. 110).

88. Sur le mode de formation du pigment dans la racine de carotte *(C. R. Acad. Sc.*, 5 août, t. CLV, p. 411).

89. Nouvelles observations sur la sexualité des Levures : 1° Existence d'une copulation hétérogamique observée dans une espèce nouvelle; 2° Sur la copulation de *Debaryomyces globosus*; 3° Sur les phénomènes de rétrogradation de la sexualité constatés dans plusieurs Levures *(Arch. f. Protistenk.*, t. XXVIII, p. 52 à 77, 6 figures de texte et 4 planches).

90. Recherches sur le mode de formation de l'amidon et sur les plastes des Végétaux (leuco-, chloro- et chromoplastes). Contribution à l'étude des mitochondries dans les Végétaux *(Arch. d'Anat. microsc.*, décembre, t. XIV, p. 310 à 428, 11 figures de texte et 6 planches).

1913

91. *Tabulæ Botanicæ*, en collaboration avec MM. A. F. Blakeslee (Storrs, Conn. U. S. A.), E. Baur (Berlin) et E. Jahn (Berlin) (Borntraeger, éd., Berlin).

92. Sur les mitochondries des Champignons *(C. R. Soc. Biol.*, 15 mars, t. LXXIV, p. 618, 1 figure de texte).

93. Nouvelles observations sur le chondriome des Champignons *(C. R. Acad. Sc.*, 9 juin, t. CLVI, p. 1781, 1 figure de texte).

94. Sur la formation de l'anthocyane au sein des mitochondries *(C. R. Acad. Sc.*, 23 juin, t. CLVII, p. 1924).

95. Sur le rôle du chondriome dans l'élaboration des produits de réserve des Champignons *(C. R. Acad. Sc.*, 7 juillet, t. CLVII, p. 63).

96. Sur la signification du chromatophore des Algues *(C. R. Soc. Biol.*, 19 juillet, t. LXXV, p. 85).

97. Les Progrès de la cytologie des Champignons *(Progressus Rei Botanicæ*, 82 figures de texte, p. 390 à 542).

98. Sur la participation du chondriome des Champignons dans l'élaboration des corpuscules métachromatiques *(Anatomischer Anzeiger*, t. XLIV, p. 333 à 342, 3 figures de texte).

99. Sur l'étude vitale du chondriome de l'épiderme des pétales d'*Iris germanica* et de son évolution en leuco- et chromoplastes *(C. R. Soc. Biol.*, 14 juin, t. LXXIV, p. 1280, 1 planche).

100. Recherches comparatives sur le développement de l'*Endomyces fibuliger* et de l'*Endomyces capsularis*, et nouvelles remarques sur la signification des anastomoses qui se produisent dans l'*Endomyces fibuliger* (Extrait du livre *Jubilaire Van Laer*, p. 36 à 71. 3 planches, 7 figures de texte).

101. Nouvelles remarques sur la signification des plastes de W. Schimper par rapport aux mitochondries actuelles *(C. R. Soc. Biol.*, t. LXXV, p. 437, 1 figure de texte).

102. Quelques remarques nouvelles sur la formation des pigments anthocyaniques au sein des mitochondries. A propos d'une note récente de M. Pensa *(C. R. Soc. Biol.*, 29 novembre, t. LXXV, p. 478, 1 planche).

103. Nouvelles observations sur le chondriome de l'asque de *Pustularia vesiculosa*. Evolution du chondriome pendant les mitoses et la formation des spores *(C. R. Soc. Biol.*, 20 décembre, t. LXXV, p. 646, 1 figure de texte)

104. Nouvelles recherches cytologiques sur la formation des pigments anthocyaniques *(C. R. Acad. Sc.*, 24 novembre, t. CLVII, p. 1000).

1914

105. Bemerkungen über die Mitochondrien der vegetativen Zellen und ihre Verwandlung in Plastiden. Eine Antworf auf einige Einwürfe *(Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, t. XXXII, p. 282 à 301, 2 figures de texte).

106. Nouvelles remarques sur les plastes des Végétaux. Evolution des plastes et des mitochondries dans les cellules adultes *(Anatomischer Anzeiger*, t. XLVI, p. 566 à 574, 1 planche).

107. Etat actuel de la question de l'évolution et du rôle physiologique des mitochondries, d'après les travaux récents de Cytologie végétale *(Rev. Gén. Bot.*, t. XXVI, p. 129 à 182, 15 figures de texte).

108. Recherches cytologiques sur la formation des pigments anthocyaniques. Nouvelle contribution à l'étude des mitochondries *(Rev Gén. Bot.*, t. XXV *bis*, p. 295 à 340, 3 planches).

109. Sur le mode de formation de l'amidon dans les radicules de Maïs et de Ricin *(Arch. d'Ant. Microsc.*, t. XII, p. 540 à 554, 1 planche).

110. Monographie des Levures rapportées d'Afrique occidentale par la Mission Chevalier *(Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9e série, t. XIX, 32 pages, 2 figures de texte et 5 planches).

111. Sur la formation de l'amidon dans l'embyron avant la maturation de la graine *(C. R. Soc. Biol.*, 4 avril, t. LXXVI, p. 167, 1 planche).

1915

112. Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'*Iris germanica*. I. Elaboration d'amidon et de xanthophylle au sein des chondriocontes *(C. R. Soc. Biol.*, 15 mai, t. LXXVIII, p. 241, 1 planche).

113. Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'*Iris germanica*. II. Production de globules graisseux au sein des mitochondries et des plastes. Fixation du chondriome *(C. R. Soc. Biol.*, 15 mai, t. LXXVIII, 1 figure de texte).

114. Sur un exemple de copulation hétérogamique observé dans une nouvelle Levure, *Zygosaccharomyces Nadsoni (C. R. Soc. Biol.*, 6 novembre, t. LXXVIII, p. 568, 1 figure de texte).

115. Quelques observations cytologiques sur le mode de formation des pigments anthocyaniques dans les fleurs *(C. R. Acad. Sc.*, 26 octobre, t. CLXI, p. 494).

116. Sur l'origine des pigments anthocyaniques *(C. R. Acad. Sc.*, 8 novembre, t. CLXI, p. 567).

117. Recherches sur le chondriome chez les Champignons et les Algues. Troisième contribution à l'étude des mitochondries *(Rev. Gén. Bot.*, t. XXVII, p. 193 à 260, 6 planches et 4 figures de texte).

1916

118. Sur une méthode permettant de colorer dans la cellule végétale les grains d'amidon au sein des mitochondries *(C. R. Soc. Biol.*, 21 octobre, t. LXXIX, p. 806, 1 figure de texte).

119. Nouvelles recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons *(C. R. Soc. Biol.*, 16 décembre, t. LXXIX, p. 1091).

1917

120. Recherches sur l'origine des chromoplastes et le mode de formation des pigments du groupe des xanthophylles et des carotines *(C. R. Acad. Sc.*, 29 janvier, t. CLXIV, p. 232).

121. Observations vitales sur le chondriome de la fleur de Tulipe *(C. R. Acad. Sc.*, 5 mars, t. CLXIV, p. 407).

122. Sur les altérations et les caractères du chondriome dans les cellules épidermiques de la fleur de Tulipe *(C. R. Acad. Sc.*, 16 avril, t. CLXIV, p. 609).

123. Contribution à l'étude de la fixation du cytoplasme *(C. R. Acad. Sc.*, 23 avril, t. CLXIV, p. 643).

124. Sur la division nucléaire des Levures *(Ann. Inst. Pasteur*, 3 mars, t. XXXI, p. 100 à 110, 1 planche, Jubilé E. Metchnikoff).

125. Levaduras del pulques *(Boletin de la Direccion de Estudios biologicos*, t. II, p. 22 à 26, 14 planches).

126. Nouvelles recherches sur les caractères vitaux et les altérations du chondriome dans les cellules épidermiques des fleurs *(Mém. Soc. Biol.*, 30 juin, t. LXXX, p. 644 à 650, 2 planches).

127. Sur les phénomènes cytologiques de la dégénérescence des cellules épidermiques pendant la fanaison des fleurs *(C. R. Soc. Biol.*, 28 juillet, t. LXXX, p. 726 à 729, 1 planche).

128. *Microbiology*, a text-Book of microorganism general and applied, dirigé par le professeur Ch. E. Marshall, Churchill, London (collaboration à ce Traité).

129. La Cytologie, ses méthodes et leur valeur *(Rev. Gén. Sc. pures et appl.*, 30 mars, p. 166 à 174 et 208 à 216, 16 figures de texte).

130. Sur la nature et le rôle des mitochondries des cellules végétales. Réponse à quelques objections *(Mém. Soc. Biol.*, 8 décembre, t. LXXX, p. 917 à 920, 2 planches).

1918

131. Sur la plasmolyse des cellules épidermiques de la feuille d'*Iris germanica* *(C. R. Acad. Sc.*, 4 février, t. CLXVI, p. 222).

132. Sur le chondriome des Champignons. A propos des récentes recherches de M. Dangeard *(C. R. Soc. Biol.*, 13 avril, t. LXXXI, p. 328, 1 planche).

133. Sur la plasmolyse des cellules épidermiques des pétales de Tulipe *(C. R. Soc. Biol.*, 27 avril, t. LXXXI, p. 427 à 431, 1 planche)

134. Sur la nature et la signification du chondriome *(C. R. Acad. Sc.*, 22 avril, t. LXVI, p. 649).

135. Mitochondries et système vacuolaire *(C. R. Acad. Sc.*, 27 mai, t. CLXVI, p. 862).

136. Sur la métachromatine et les composés phénoliques de la cellule végétale *(C. R. Acad. Sc.*, 10 juin, t. CLXVI, p. 958).

137. Sur la signification du chondriome *(Rev. Gén. Bot*, t. XXX, p. 161 à 177, 13 planches).

138. Sur l'origine mitochondriale des plastides *(C. R. Acad. Sc.*, t. CLXVII, p. 430).

139. *Zygosaccharomyces Nadsoni* : Nouvelle espèce de Levures à conjugaison hétérogamique *(Bul. Soc. Mycol. de France*, t. XXXIV, 14 pages, 1 figure de texte et 4 planches).

1919

140. Mitochondries et symbiotes *(C. R. Soc. Biol.*, 29 mars, t. LXXXII, p. 309 à 312).

141. Sur une nouvelle Levure à copulation hétérogamique *(C. R. Soc. Biol.*, 10 mai, t. LXXXII, p. 466, 1 planche).

142. Sur les caractères du chondriome dans les premiers stades de la différenciation du sac embryonnaire de *Tulipa suaveolens* *(C. R. Soc. Biol.*, 26 juillet, t. LXXXII, p. 976, 1 planche).

143. Sur les chondriome et les formations ergastoplasmiques du sac embryonnaire des Liliacées *(C. R. Acad. Sc.*, 11 août, t. CLXIX, p. 600, 1 figure de texte).

144. Sur l'origine mitochondriale des plastides. A propos d'un travail de M. Mottier *(Ann. Sc. Nat. Bot.*, 10e série, t. XIV, p. 226 à 246, 10 figures de texte, 5 planches).

145. Sur un nouveau Champignon présentant des caractères intermédiaires entre les Levures et les *Endomyces* *(C. R. Soc. Biol.*, 20 décembre, t. LXXXII, p. 1343, 1 planche). En collaboration avec le Dr G. Péju.

146. Observations vitales sur le chondriome des Végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens. Contribution à l'étude physiologique de la cellule *(Rev. Gén. Bot.*, t. XXXI, p. 372 à 683, 35 figures de texte et 45 planches).

1920

147. Sur l'évolution du chondriome dans la cellule végétale *(C. R. Acad. Sc.*, 19 janvier, t. CLXX, p. 194, 1 figure de texte).

148. Sur les éléments figurés du cytoplasme *(C. R. Acad. Sc.*, 8 mars, t. CLXX, p. 612, 1 figure de texte).

149. Sur la métachromatine des Champignons *(C. R. Soc. Biol.*, 21 février, t. LXXXIII, p. 202, 1 planche).

150. Sur l'origine des vacuoles dans les cellules de quelques racines *(C. R. Soc. Biol.*, 27 mars, t. LXXXIII, p. 411, 1 planche).

151. Sur la coexistence dans la cellule végétale de deux variétés distinctes de mitochondries *(C. R. Soc. Biol.*, 27 mars, t. LXXXIII. p. 408, 1 planche).

152. Observations vitales du chondriome des Champignons *(C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 404, 1 planche).

153. Sur l'évolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen de *Lilium candidum (C. R. Acad. Sc.*, 26 avril, t. CLXX, p. 1003, 1 figure de texte).

154. Sur les relations entre le chondriome des Champignons et la métachromatine *(C. R. Soc. Biol.*, 17 mai, t. LXXXIII, p. 855, 1 planche).

155. A propos de la métachromatine *(C. R. Soc. Biol.*, 17 mai, t. LXXXIII, p. 853).

156. Observations vitales sur le chondriome d'une Saprolégniacée *(C. R. Acad. Sc.*, 31 mai, t. CLXX, p. 1329, 1 figure de texte).

157. Sur la structure de la cellule végétale *(C. R. Acad. Sc.*, 21 juin, t. CLXX, p. 1515).

158. Sur le sphérome de M. Dangeard *(C. R. Soc. Biol.*, 21 juin, t. LXXXIII, p. 975, 1 planche).

159. A propos de deux notes récentes de M. Dangeard *(C. R. Soc. Biol.*, 21 juin, t. LXXXIII, p. 979).

160. Nouvelles remarques sur la coexistence de deux variétés de mitochondries dans les Végétaux chlorophylliens *(C. R. Soc. Biol.*, 10 juillet, t. LXXXIII, p. 1046, 1 planche).

161. Nouvelles observations cytologiques sur *Saprolegnia (C. R. Acad. Sc.*, 26 juillet, t. CLXXI, p. 266, 1 figure de texte).

162. Les Levures des saucissons *(Ann. Inst. Pasteur*, t. XXXIV, p. 129 à 236, 6 figures de texte). En collaboration avec M. E. Cesari.

163. *The Yeasts*, translated and thoroughly revised in collaboration with the original Author, by Fred. W. Tanner, 424 pages, 163 figures de texte, John Willy and Sons, New-York.

164. Observations cytologiques sur le cytoplasme d'un *Saprolegnia (La Cellule*, t. XXX, p. 133 à 378, 2 planches doubles).

165. A propos de récentes notes de M. Dangeard *(Bul. Soc. Bot. de France*, t. XX, p. 170, 5 figures de texte).

166. Une nouvelle espèce de Levure du genre *Debaryomyces. D. Klockeri*, n. sp. *(Bull. Soc. Myc. de France*, t. XXXVI, p. 104 à 171, 5 planches). En collaboration avec le D[r] Péju.

167. *Zygosaccharomyces Pastori*, nouvelle espèce de Levure à copulation hétérogamique *(Bul. Soc. Myc. France*, t. XXXVI, p. 203 à 210, 2 planches et 1 figure de texte):

168. Nouvelles recherches sur l'appareil vacuolaire dans les Végétaux *(C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXI, p. 1071, 1 planche).

169. Caractères différentiels de l'appareil vacuolaire et du chondriome dans la cellule végétale *(C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 1435, 1 planche).

1921

170. A propos de la constitution morphologique du cytoplasme *(C. R. Acad. Sc.,* 10 janvier, t. CLXXII, p. 121, 1 figure de texte).

171. A propos d'un travail de Meves sur le chondriome de la cellule végétale *(C. R. Soc. Biol.,* 17 janvier, t. LXXXIV, p. 202, 1 planche).

172. Sur les caractères et l'évolution du chondriome dans les Végétaux chlorophylliens *(C. R. Soc. Biol.,* 17 janvier, t. LXXXIV, p. 197, 1 planche).

173. La Constitution morphologique du cytoplasme dans la cellule végétale *(Rev. Gén. Sc. pures et appl.,* 15 mars, 32e année, no 5, p. 133 à 140, 4 figures de texte).

174. Les constituants morphologiques du cytoplasme, d'après les recherches récentes de Cytologie végétale *(Bul. Sc. France et Belgique,* t. LIV, p. 466 à 512, 24 figures de texte).

175. Sur les éléments figurés du cytoplasme chez les Végétaux; chondriome, appareil vacuolaire et granulations lipoïdes *(Arch. Biol.,* t. XXXI, p. 82, 7 figures de texte et 4 planches).

176. Une nouvelle espèce de Levure du genre de *Debaryomyces, D. Nadsoni,* n. sp. *(Bul. Soc. Mycol. France,* t. XXXVII, p. 35 à 36, 1 figure de texte). En collaboration avec le Dr Péju.

177. Sur les microsomes et les formations lipoïdes de la cellule végétale *(C. R. Acad. Sc.,* 27 juin, t. CLXXII, p. 1676).

178. A propos de l'origine de l'anthocyane *(C. R. Soc. Biol.,* 13 juin, t. LXXXV, p. 98).

179. Sur la formation des chloroplastes dans l'*Elodea canadensis (C. R. Soc. Biol.,* 4 juillet, t. LXXXV, p. 462, 1 planche).

180. Sur le chondriome des Conjuguées et des Diatomées *(C. R. Soc. Biol.,* 4 juillet, t. LXXXV, p. 466, 1 planche).

181. Nouvelles observations sur l'origine des plastides dans les Phanérogames *(Rev. Gén. Bot.,* t. XXXIII, p. 402, 10 planches).

182. Observations cytologiques sur le bourgeon d'*Elodea canadensis (C. R. Acad. Sc.,* 1er août, t. CLXXIII, p. 331).

183. Remarques sur la cytologie de l'albumen du Ricin; origine et évolution des grains d'aleurone *(C. R. Assoc. Fr. Av. Sc., Congrès de Rouen,* 1 planche). Sous presse.

184. Evolution du système vacuolaire des Végétaux et grains d'aleurone *(C. R. Acad. Sc.,* 1 figure de texte). Sous presse.

185. Analyses in : *Bul. de l'Institut Pasteur, Revue générale de botanique et Centralblatt für Bakteriologie.*

LISTE DES TRAVAUX EFFECTUÉS DANS LE LABORATOIRE

SOUS LA DIRECTION DE M. GUILLIERMOND

J. VILLARD. — Contribution à l'étude cytologique des Zoochlorelles *(C. R. Acad. Sc.*, t. CXXXVI, 1903).

H. RAJAT. — *Le Champignon du Muguet*, Thèse de Doct. en Méd., Lyon, 1906.

H. MARCHAND. — Sur la conjugaison des ascospores chez quelques Levures *(C. R. Soc. Biol.*, t. LXII, 1912).

— Nouveaux cas de conjugaison des ascospores chez les Levures *(C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIII, 1912).

— La conjugaison des ascospores chez les Levures *(Rev. Gén. Bot.*, t. XXV, 1912).

J. TURCHINI. — Rôle de l'hétérocyste chez les Nostocées *(Rev. Gén. Bot.*, t. XXX, 1918).

G. RICHARD. — *Recherches cytologiques et expérimentales sur les Corynébactéries* (Bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques). Etudes sur les corpuscules métachromatiques (Thèse de Doct. en Méd., Lyon, 1920).

G. MANGENOT. — Sur la formation des asques chez l'*Endomyces Lindneri* (Saito) *(C. R. Soc. Biol.*, 15 mars 1919).

— Sur la formation des asques chez les *Endomyces* Lindner (Saito) *(C. R. Soc. Biol.*, 10 mai 1919).

— Sur l'évolution du chondriome et des plastes chez les Fucacées *(C. R. Ac. Sc.*, 5 janvier 1920).

— Sur l'évolution du chondriome et des plastes chez les Fucacées *(C. R. Ac. Sc.*, 19 janvier 1920).

— Sur l'évolution du chondriome et des plastes dans l'anthéridie des Fucacées *(C. R. Soc. Biol.*, mars 1920).

— A propos du chondriome des *Vaucheria (C. R. Ac. Sc.*, juin 1920).

— Sur l'évolution du chondriome et des chromatophores des Floridées *(C. R. Ac. Sc.*, juin 1920).

— Sur les mitochondries dans les cellules animales et végétales [avec Emberger] *(C. R. Soc. Biol.*, mars 1920).

— Sur les formations graisseuses des *Vaucheria (C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 1920).

— Sur les grains de fucosane *(C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXII, 1921).

— Sur l'anthérozoïde des *Fucus (C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXII, 1921).

— Sur l'amidon des Floridées *(C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 1921).

— Recherches sur le cytoplasme des Algues *(Arch. Morphol. gén. et expér.*, 1921), Thèse de Doct. ès Sc. de la Sorbonne (sous presse).

L. Emberger. — Sur l'évolution du chondriome dans la racine des Fougères (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, 1920).

— Sur l'évolution du chondriome dans le sporange des Fougères (*C. R. Soc. Biol.*, t. CLXX, 1920).

— Recherches cytologiques sur les Sélaginelles (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, 1920).

— Etude du chondriome dans les organes sexuels des Fougères (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, 1920).

— Recherches sur l'origine et l'évolution des plastides chez les Ptéridophytes, Contribution à l'étude cytologique de la cellule végétale (*Arch. de Morphol. gén. et exp.*, 1921), Thèse de Doct. ès Sc. de la Faculté de Lyon.

R. Noel[1]. — Sur l'élaboration de grains de sécrétion par le chondriome de la cellule hépatique chez la Grenouille (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, 1921).

— Sur quelques attitudes fonctionnelles du chondriome de la cellule hépatique (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXII, 1921).

Grigoraki et Péju. — Sur une nouvelle espèce de Levure du genre *Debaryomyces : D. Matruchoti* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, 1921).

[1] Les recherches de M. Noël ont été effectuées aussi et surtout à la Faculté de Médecine (Laboratoire d'Histologie, professeur Policard) ; de même que celles de M. Richard (Laboratoire de Médecine expérimentale, professeur Arloing).

TABLE DES MATIÈRES

Titres universitaires. Prix de l'Académie des Sciences. Sociétés scientifiques. Fonctions universitaires. Enseignement III

Introduction V

Exposé analytique des travaux scientifiques 1

I. — RECHERCHES SUR LES PROTOASCÉES (ENDOMYCÉTACÉES ET SACCHAROMYCÉTACÉES). DÉVELOPPEMENT, SEXUALITÉ, TAXINOMIE ET PHYLOGÉNIE 1

A. — *Cytologie des Levures*. 1

1° Structure générale. 1

2° Phénomenes cytologiques de la sporulation 3

3° Caractères histochimiques, évolution et rôle des corpuscules métachromatiques 4

B. — *Sexualité des Levures*. 6

1° Copulation à l'origine de l'asque. Isogamie. 6

2° Hétérogamie 10

3° Régression de la sexualité 13

4° Copulation des ascospores 14

5° Raccourcissement du développement. Transformation directe de l'ascospore en asque 17

6° Idées d'ensemble sur la sexualité des Levures 19

C. — *Origine des Levures* 20

D. — *Endomycétacées* 21

Développement et sexualité 21

E. — *Phylogénie des Levures* 26

F. — *Monographie de nouvelles espèces de Levures* 28

Cryptococcus Guilliermondi 28

Levures de la mission Chevalier 28

Zygosaccharomyces Nadsoni 29

Levures de Pulque 29

Zygosaccharomyces Pastori 30

Debaryomyces Klöckeri. 30

Debaryomyces Nadsoni. 32

Levures des saucissons 32

II. — Recherches cytologiques sur Ascomycètes supérieurs 33
1° Etude des corpuscules métachromatiques et de l'épiplasme 33
2° Formation des asques 35
3° Mitoses de l'asque, évolution nucléaire et formation des ascospores . . . 36

III. — Recherches sur la cytologie des Cyanophycées et des Bactéries 39
A. — *Structure et noyaux des Cyanophycées* 39
B. — *Cytologie des Bactéries* 41
1° Structure générale. 41
2° Signification des corpuscules métachromatiques 43

IV. — Recherches sur les grains d'aleurone 45
1° Origine et structure des grains d'aleurone 45
2° Caractères histochimiques de la protéine et des globoïdes 46

V. — Recherches sur les corpuscules métachromatiques 47
1° Importance et fréquence des corpuscules métachromatiques. 47
2° Relation des granulations des Mastzellen (leucocytes à granulations basophiles) avec les corpuscules métachromatiques 48

VI. — Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme. Mitochondries 49
I. — *Le chondriome. Evolution des plastes.* 49
A. — Evolution des mitochondries dans les Végétaux chlorophyllaires et origine des plastes. 49
1° Le chondriome dans les organes sexuels 50
2° Différenciation des plastes dans les membres de la plante. . . . 52
a) Amyloplastes 52
b) Chloroplastes 56
c) Chromoplastes 57
d) Formation de granulations lipoïdes au sein de chondriocontes 59
3° Caractères vitaux du chondriome 59
4° Dégénérescence du chondriome. 60
5° Fixation du chondriome 60
6° Origine et évolution des plastes. Interprétations générales . . . 61
a) Mitochondries et plastes. 61
b) Présence dans les Végétaux chlorophyllaires de deux variétés de mitochondries 63
c) Caractères morphologiques et histochimiques de deux variétés de mitochondries 66
d) Conclusions générales de mes recherches 72
B. — Mitochondries des Champignons. 73
C. — Mitochondries et symbiotes 76

II. — *Appareil vacuolaire*. 77
A. — Caractères et évolution de l'appareil vacuolaire 77
a) Evolution de l'appareil vacuolaire 77
b) Nature chimique des produits contenus dans les vacuoles . . . 80
c) Origine des vacuoles 82
B. — Origine des pigments anthocyaniques 82
C. — Action des milieux hypotoniques et hypertoniques sur les cellules. Plasmolyse 83
III. — *Granulations lipoïdes* 84
IV. — *Structure générale de la cellule végétale* 85
V. — *Orientation dans les méthodes cytologiques* 85

VII. — Traités. — Notices. — Revues générales 88
Les Levures 88
The Yeasts 88
Microbiology 88
Tabulæ botanicæ 89
La Question de la sexualité des Champignons 89
Emile Chr. Hansen 89
La Sexualité des Champignons 89
Les Progrès de la Cytologie des Champignons 90

Liste générale chronologique des publications. 91

Liste des travaux effectués dans le Laboratoire, sous la direction de M. Guilliermond. 103

Lyon. — Imprimerie A. Rey, 4, rue Gentil. — 83643